

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta
Katedra zoologie



Bc. Veronika Truhlářová

Evoluce zraku u paprskoploutvých ryb
The evolution of vision in ray-finned fishes

Diplomová práce

Vedoucí závěrečné práce: Mgr. Zuzana Musilová, Ph.D.

Praha, 2018

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval/a samostatně a že jsem uvedl/a všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 10.8.2018

Podpis

Chtěla bych poděkovat všem, kdož mne celé dva roky neúnavně podporovali a drželi mě nad hladinou: především své školitelce, Zuzaně Musilové, za její trpělivost a pevné nervy nejen při zodpovídání mého miliontého dotazu. Kolegům za cenné rady, poznámky a podněty, kterými mě zásobovali – hlavně Gabriele Wofkové, s níž jsem se v laboratoři zabydlela, Dmytru Omelchenkovi, že mi ve volné chvíli pomáhal zas a znovu s bioinformatickou stránkou věci, a Monice Klodawské, která se mnou prošla nové protokoly a pomáhala mi s jejich úpravou, když spousta věcí nevycházela. Také jsem našemu týmu vděčná za veškerou morální podporu a nedocenitelné přátelství na našich konferenčních výjezdech po Evropě i mimo ni. A bez fantastické Karen Carleton, již nesmírně obdivuji, bych se nejspíš nedopátrala, jak to vlastně s těmi aminokyselinami je, poněvadž v jednoduchých tabulkách na kusu sterilního papíru rozhodně není všechna moudrost světa – tu začneme pomaloučku odhalovat až s překonáním trémy a kontaktem s těmi osobnostmi vědecké komunity, které si ve svých hlavách idolizujeme.

Vděčná jsem i Petře Horké z Ústavu životního prostředí PřF UK za to, že jsem se mohla přidat k několika výjezdům do terénu. A to platí i pro skupinu Jana Kubečky a Jiřího Peterky z Hydrobiologického ústavu AV ČR v Českých Budějovicích – za to, že jsem si mohli nasbírat materiálu, co hrdlo ráčí.

Zároveň bych tímto ráda vyjádřila své díky nadaci Nadání Josefa, Marie a Zdenky Hlávkových za finanční příspěvek, díky němuž o mé práci slyšela i neuroetologická komunita. A tento projekt by nemohl existovat bez prostředků grantů České (GAČR 16-09784Y) a Švýcarské grantové agentury (PROMYS IZ11Z0_166550).

Abstrakt

Zrak hraje klíčovou roli v životě mnoha obratlovců a výkon zrakového systému je často přizpůsoben podmínkám prostředí, v němž jednotlivé druhy žijí. Ryby osídlily širokou škálu habitatů a přizpůsobily jim svůj zrak tak, aby maximalizovaly svou úspěšnost v lovu, reprodukci a úniku predátorům. Tato práce se zabývá zrakovými schopnostmi dvou velkých skupin kostnatých ryb: afrických říčních cichlid z čeledi Cichlidae (řád Cichliformes, součást velké skupiny Percomorpha) a evropských kaprovitých ryb z čeledi Cyprinidae (řád Cypriniformes, součást velké skupiny Ostariophysi), u nichž jsou zde zkoumány geny pro fotoreceptorové proteiny opsiny. Na sítnici jsou přítomny dvě skupiny světločivných buněk (fotoreceptorů): tyčinky a čípky a paprskoploutvé ryby mají obecně čtyři skupiny čípkových opsinů (SWS1, SWS2, RH2 a LWS) využívané pro barevné (fotopické) vidění, a jednu skupinu tyčinkových opsinů (rodopsinů) pro vidění za špatných světelných podmínek (skotopické vidění). V této práci se zaměřuji 1) na DNA sekvenci a aminokyselinové záměny opsinových genů, a 2) na expresi těchto genů citlivých na různé vlnové délky viditelného spektra dopadající na sítnici. Výsledky mé práce ukazují, že jak cichlidy (čeleď Cichlidae), tak i kaprovité ryby (čeleď Cyprinidae) mají ve svém genomu kompletní sadu genů pro opsiny zahrnující všechny čtyři typy čípkových opsinů a jeden typ rodopsinu. Tyto geny jsou pak v různé míře exprimovány. U obou skupin převažují druhy s dominantní expresí genu pro opsin citlivý v červeném spektru (LWS) a moje data ukazují, že tento stav je také pravděpodobně původní pro celou skupinu afrických cichlid. Cichlidy exprimovaly 4–5 čípkových opsinových genů a u kaprovitých bylo detekováno 4–7 exprimovaných genů. V této práci jsem zjistila rozdílné poměry exprese opsinů mezi zkoumanými druhy, a to jak v rámci cichlid, tak v rámci kaprovitých ryb. Kromě expresních profilů dospělých ryb se v této práci zaměřuji na porovnání exprese opsinů mezi dospělci a larválními stadii vybraných druhů kaprovitých ryb. Ukázala jsem, že expresní profil larválních stádií je velmi odlišný od profilu dospělého, s vyšším poměrem krátkovlnných opsinů (SWS1 a SWS2 citlivých od UV po modrou část spektra), což odpovídá předchozím pozorováním u vzdáleně příbuzné skupiny cichlid a mohlo by se tak jednat o obecný jev u ryb.

Klíčová slova: zrak, fotoreceptory, opsiny, cichlidy, kaprovité ryby, vývojová plasticita

Abstract

Vision plays a key role in life of many vertebrates, and the performance of visual system is often adapted to specific environments inhabited by individual species. Fish colonized a wide range of habitats and adjusted their visual abilities to maximize their success rates in hunting, reproduction and predator avoidance. This thesis is focused on molecular mechanism of visual system, namely on genes for photoreceptor proteins, opsins, of two major groups of teleost fishes: African riverine cichlids (family Cichlidae, order Cichliformes, part of larger taxa Percomorpha), and European freshwater cyprinids (family Cyprinidae, order Cypriniformes, part of larger taxa Ostariophysi). Two types of photoreceptor cells are present on retina: the cones and the rods. Actinopterygian fishes in general have four cone opsin types (SWS1, SWS2, RH2 and LWS) used for colour (photopic) vision, and one rod opsin type (rhodopsins) for vision in deteriorated light conditions (scotopic vision). In the present thesis, I focus on 1) DNA sequence and amino acid substitutions of the opsin genes, and on 2) gene expression levels of opsins sensitive to various wavelengths of light spectrum. The results of my work show that both cichlids (family Cichlidae) and cyprinids (family Cyprinidae) have a complete set of opsin genes in their genome, including four types of cone opsins and one type of rod opsins. These genes are then expressed differently among species. Species with dominant red (LWS) opsin expression prevail in both groups; furthermore, this condition most likely seems to be ancestral for whole group of African cichlids. Cichlids express 4 to 5 cone opsin genes, and in cyprinids, there were 4 to 7 of these genes expressed. I have found different expression levels among species studied, both in cichlids and cyprinids. Aside from expression profiles of adult fish in cyprinid species, I am focusing on expression level differences between adult fish and their larval stages. I have shown that expression profiles of larval stages differ from expression profiles of adults, with higher levels of short wavelength opsins in the larval stages (SWS1 and SWS2, sensitive from UV to blue part of the spectra), which corresponds to previous observations within distantly related cichlids; thus it could be of common and possibly more general feature among fishes.

Key words: vision, photoreceptors, opsins, cichlids, cyprinids, developmental plasticity

Obsah

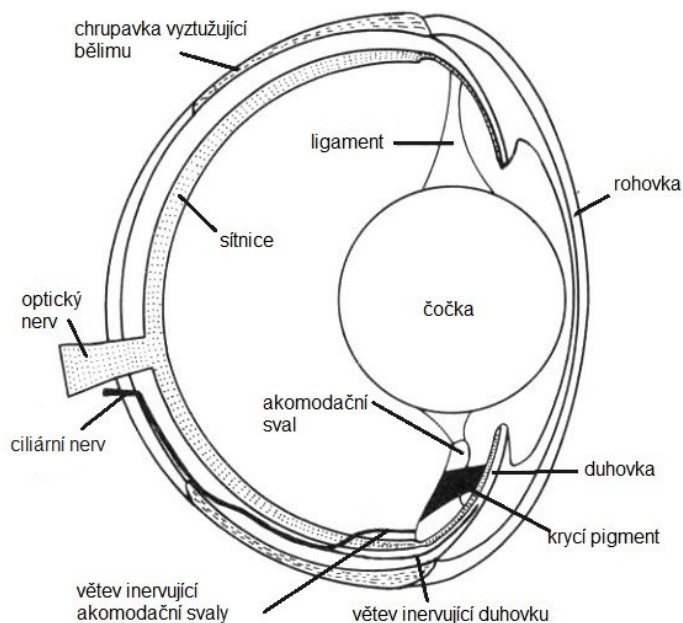
1	Teoretický úvod	1
1.1	Citlivost opsinů u obratlovců	2
1.1.1	<i>Manipulace s citlivostí sítnice</i>	3
1.2	Opsiny na sítnici očí ryb	4
1.3	Molekulární změny citlivosti opsinů	6
1.4	Vývojová plasticita zrakového aparátu	8
1.5	Vlastnosti zraku afrických cichlid	9
1.5	Fotoreceptorová výbava kaprovitých ryb	10
2	Cíle práce	12
3	Materiál a metody	14
3.1	Vzorkování ryb	14
3.2	Izolace DNA a RNA	15
3.2.1	<i>Izolace a zpracování DNA</i>	15
3.2.2	<i>Barcoding</i>	17
3.2.3	<i>Izolace RNA a příprava RNA knihoven</i>	18
3.3	Zpracování dat v programu Geneious	18
3.3.1	<i>Práce s geny</i>	19
3.3.2	<i>Práce s transkripty</i>	19
3.3.3	<i>Práce s aminokyselinovými sekvencemi</i>	20
3.4	Zjištění expresních profilů opsinových genů	20
4	Výsledky	22
4.1	Barcoding larválních stadií	22
4.2	DNA informace opsinových genů	23
4.3	Záměny aminokyselin na pozicích v proteinu a potenciální vliv na funkci zraku	26
4.3.1	<i>Záměny aminokyselin v opsinových proteinech u cichlid</i>	26
4.3.2	<i>Záměny aminokyselin v opsinových proteinech u kaprovitých ryb</i>	34
4.4	Expresní profily opsinových genů	44
4.4.1	<i>Exprese opsinů u cichlid</i>	44
4.4.2	<i>Exprese opsinů u kaprovitých ryb</i>	45
4.5	Vývojová plasticita zraku u kaprovitých ryb	46
4.5.1	<i>Expresní profily larválních stadií</i>	46
4.5.2	<i>Porovnání larválních stadií s dospělci</i>	46
5	Diskuze	49
5.1	Fylogeneze genů pro opsiny	49

5.2	Záměny aminokyselin na klíčových pozicích a jejich potenciální vliv na funkci zraku	49
5.3	Exprese opsinů.....	51
5.3	Vývojová plasticita zraku u kaprovitých ryb.....	52
6	Závěr.....	55
	Reference.....	56

1 Teoretický úvod

Zrak je pro mnoho skupin živočichů hlavním orientačním smyslem, jenž se vyvíjel od kambrické exploze před zhruba 540 miliony let. V případě obratlovců je orgánem zraku komorové oko (viz Obr. 1), které obsahuje mj. světlolomný aparát (rohovka, čočka, sklivec a komorová voda), v němž jsou světelné paprsky soustředěny na světločivný aparát, sítnici, s receptorovou funkcí – přeměňuje proud fotonů na nervové vzruchy (Lamb et al., 2007).

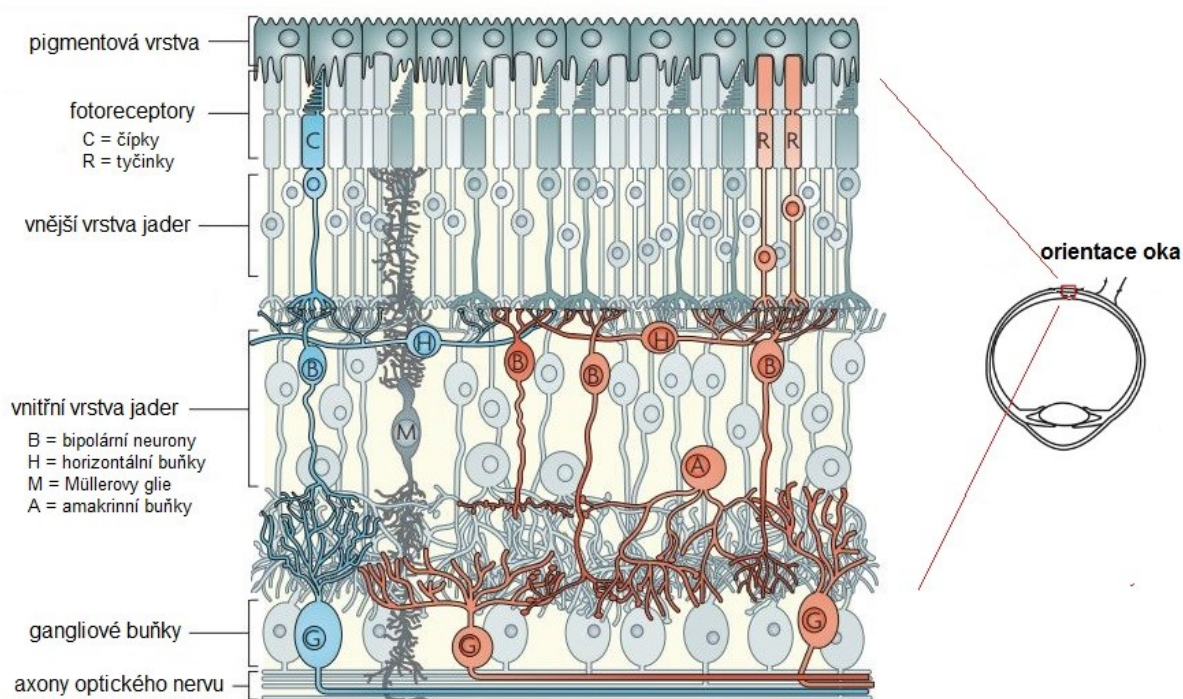
Obrázek 1: Komorové oko obratlovce na příkladu kostnaté ryby. Upraveno podle Somiya, 1987.



Na sítnici očí obratlovců se nachází dva hlavní typy světločivných buněk (stavba sítnice viz Obr. 2), tzv. fotoreceptorů, na jejichž membránách jsou přítomny fotocitlivé proteiny – opsiny. První typ těchto buněk, čípky, jsou citlivé na světlo o dostatečné intenzitě a na jejich membránách je exprimováno několik typů opsinových genů s citlivostí na různé vlnové délky barevného spektra. Naopak druhý typ fotoreceptorů, tyčinky, jsou citlivé na nízkou intenzitu světla a na jejich membránách se exprimuje jediný typ rodopsinů (Sichida a Matsuyama, 2009). Čípky slouží k barevnému fotopickému vidění (tedy vidění za dostatečné intenzity světla), které se v průběhu evoluce pravděpodobně vyvinulo jako první, následováno skotopickým viděním zprostředkovaným tyčinkami a uzpůsobeným na špatné světelné podmínky prostředí (Collin et al., 2003). Fotopické vidění je u obratlovců nejběžněji reprezentováno dvěma až čtyřmi typy čípkových opsinů citlivými na různé úseky viditelného spektra. Dichromacie, trichromacie či tetrachromacie jsou běžné u evolučně starších skupin obratlovců; potenciál barevného vidění měli s jistotou již bezčelistnatci obratlovci v pozdním kambriu a ordoviku (Bowmaker, 2008; Collin et al., 2003). V tyčinkách je schopen vytvořit odpověď už jediný zachycený foton, proto

skotopické vidění funguje při nízkých intenzitách světla. Na rozdíl od čípků, které fungují při různých světelných intenzitách, tyčinky se v jasném světle rychle saturují a přestávají pracovat (Baylor et al., 1979; Musser a Arendt, 2017). Co se týče genu pro tyčinkový opsin, bezčelistnatí ho mají také (Collin et al., 2009), ale jejich fotoreceptory mají funkci srovnatelnou s čípkami na sítnici čelistnatců (Collin et al., 2003).

Obrázek 2: Struktura sítnice obratlovce na příkladu savce. Modře naznačena signální dráha čípků, červeně signální dráha tyčinek. Světlo po průchodu světlořadným aparátem dopadá na sítnici, kde nejprve překonává vrstvu neuronů, než se odrazí od pigmentové vrstvy a dopadá na vnější segmenty tyčinek a čípků. Upraveno podle Swaroop et al., 2010.



1.1 Citlivost opsinů u obratlovců

Opsiny jsou součástí skupiny proteinů, která se kromě zraku angažuje například v neurálním vývoji u ryb, negativní fototaxi u larev obojživelníků, v cirkadiálních rytmech savců či v sezónním rozmnožování ptáků (Beaudry et al., 2017). Opsiny, jež se účastní přímo fotorecepce v čípcích a tyčinkách, nazýváme zrakové opsiny (anglicky „visual opsins“; např. Terakita, 2005).

Z molekulárního hlediska opsiny patří do rodiny G-proteinových membránových receptorů, jsou spřaženy s G-proteinem transducinem. Opsiny tvoří sedm alfa helixů složených celkem z cca 350 aminokyselin, které prochází membránou a tvoří strukturu s kapsulou pro navázání ligandu. S lysinem na sedmém transmembránovém helixu je Schiffovou bazí propojen chromofor (Bowmaker, 2008). Citlivost opsinu na světlo je dána interakcí mezi opsinem a

chromoforem – jeho konformace se při dopadu světelného paprsku na molekulu mění, což vede ke změně propustnosti membrány (Yokoyama, 2000; Wald, 1968).

Čípkové opsiny tvoří čtyři základní skupiny: První skupinu tvoří opsiny citlivé na oblast červeného a zeleného spektra o vlnových délkách 480–570 nm, tzv. LWS (long wavelength-sensitive). Druhá skupina, opsiny citlivé na zelené světlo, registrují vlnění o délkách mezi 480 a 535 nm, tzv. RH2 (rodopsin-like, jsou nejpodobnější rodopsinům na tyčinkách). Třetí skupinou jsou opsiny citlivé na krátké vlnové délky 410–490 nm v modrofialové části spektra, SWS2 (short wave-sensitive). Poslední skupinu tvoří opsiny také citlivé na nejkratší vlnové délky (zejména ultrafialové světlo), SWS1. Obecně jsou maximální vlnové délky absorbované SWS2 pigmenty mnohem více variabilní než menší rozsah těchto délek u modrých SWS2 pigmentů, absorbované vlnové délky se pohybují mezi 355 a 440 nm, většina ultrafialových pigmentů absorbuje délky kolem 360 nm (Yokoyama, 2000).

Většina tyčinkových (rodopsinových) pigmentů mezi obratlovci absorbuje vlnové délky kolem 500 nm, přičemž u mořských organismů, jako jsou delfini či mořští úhoři, bývá absorbovaná část spektra posunuta směrem ke kratším vlnovým délkám (Yokoyama, 2000).

Co se týče chromoforu, jeho typ přítomný v molekule opsinu může moderovat funkci opsinu. Buď je jím retinal (vitamin A₁) nebo 3-dehydroretinal (vitamin A₂). Záměna retinalu za 3-dehydroretinal posouvá absorpční maximum opsinu k červené části spektra. Tento efekt je silnější u opsinů citlivých v oblasti červeného a zeleného spektra, se zkracujícími se vlnovými délkami se rozdíl mezi absorpční schopností opsinu s retinalem a tzv. porfyropsinu s 3-dehydroretinalem zmenšuje (Bowmaker, 2008; Parry a Bowmaker, 2000). Dříve se uvádělo, že porfyropsiny se nachází zpravidla u sladkovodních druhů ryb, obojživelníků a plazů, zatímco opsiny s retinalem jsou běžné pro terestrické obratlovce a obratlovce z mořského prostředí (Bowmaker, 2008). Nicméně studie detailněji zaměřené na použitý chromofor detailněji ukazují, že v jednom oku mohou dokonce být použity oba typy chromoforu v různém poměru (např. Carleton, 2009).

1.1.1 Manipulace s citlivostí sítnice

Řada obratlovců dokáže manipulovat s citlivostí vlastní sítnice některým z mechanismů zahrnujícími pigmenty. Je známo, že například holubi mají v čípcích olejové kapénky obsahující karotenoidy, které slouží jako filtr při průchodu světelného paprsku a ovlivňují maximální absorbované vlnové délky čípku (Bowmaker, 1977). Oproti tomu cichlidy z Amazonie mají žlutou čočku a rohovku sloužící k odfiltrování kratších vlnových délek (Muntz, 1973). Také existuje tzv. retinomotorová aktivita, při níž na sítnici migrují melaninová granula. Tato granula v případě vysoké intenzity světla migrují směrem ke světločivným

buňkám, což způsobuje prodloužení tyčinek a smrštění čípků, které tak zůstanou v popředí (Besharse et al., 1988).

Také typ chromoforu není druhově fixován. Relativní poměry mezi A1 pigmenty a A2 pigmenty se u mnoha druhů ryb mění, například zvýšením syntézy 3-dehydroretinalu ve spojení s očekávanou změnou prostředí. A1 a A2 pigmenty jsou na sítnici vzájemně zaměňovány například při migracích mezi sladkovodním a mořským prostředím (Beatty, 1984; Yokoyama, 2000).

Dalším způsobem manipulace s citlivostí na dané světelné podmínky prostředí je tzv. koexprese genů pro opsiny, tedy exprese dvou pigmentů v jedné buňce. Při koexpresi se mění vlnová délka, na kterou je fotoreceptor citlivý; typicky jde o zesvětlení pozadí pro zvýšení kontrastu mezi prostředím a objekty v popředí (viz níže; Dalton et al., 2014).

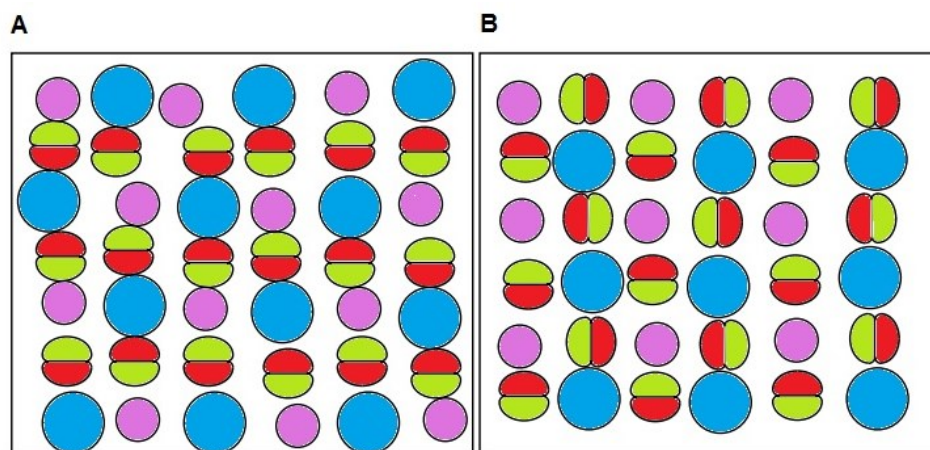
1.2 Opsiny na sítnici očí ryb

Všechny typy opsinových genů se vyvinuly již u společného předka všech obratlovců, což ukazuje na evoluční konzervativnost zrakového systému (Lamb et al., 2007). Obratlovci v minulosti prošli celogenomovou duplikací, ovšem u paprskoploutvých ryb (Actinopterygii) došlo ještě k další duplikační události vedoucí ke kostnatým rybám (Teleostei), kterou nesdílejí se sarkopterygní linií (Meyer a Vand de Peer, 2005). Ačkoli je polyploidie považována za evoluční slepou uličku, celogenomové duplikace přispívají k potenciálu dané linie diverzifikovat, což je i případ kostnatých ryb. Nově získané kopie genů mohou získat novou funkci (Van de Peer et al., 2009). Zda měl předek obratlovců pouze dva geny pro zrakové opsiny, není jisté, ovšem po sérii celogenomových duplikací mají kostnaté ryby repertoár opsinů obsáhlejší, charakteristický pro danou skupinu ryb a dále navyšovaný specifickými duplikacemi, jak je tomu například u lososovitých ryb (Langman et al., 2013; Berthelot et al., 2014). Opsinové geny jsou však ještě evolučně dynamičtější a jejich zmnožení nezávisí pouze na duplikaci celého genomu, nýbrž také na duplikaci jednotlivých genů (Cortesi et al., 2015). Na sítnici jsou obvykle exprimovány maximálně tři až čtyři fotoreceptorové geny, avšak ryby mají v genomu nezdědka i více než 10 různých opsinových genů (pozorovaný medián je kolem 7; Musilová et al., v přípravě). Více genů v genomu vede k více možnostem pro jejich expresi, u některých skupin ryb se vyvinuly alternativní expresní kombinace, a tak dva druhy se shodnou DNA sekvencí opsinových genů mohou mít na sítnici odlišné kombinace těchto genů a tím i disponovat různými zrakovými schopnostmi (např. citlivost na UV a červené světlo u cichlid z Malawi, viz níže; Carleton et al., 2016).

Na sítnici očí ryb jsou nenáhodně rozmístěny tři typy světločivných buněk: kromě již zmíněných tyčinek mají ryby dva typy čípků, jednoduché a složené, které vznikly částečným splynutím dvou buněk (Takechi a Kawamura, 2005; Fishelson et al., 2004). Jednoduché čípky jsou menší a oproti dvojitým čípkům mají tendenci absorbovat kratší vlnové délky. Rozmístění obou typů čípků tvoří na sítnici mozaiku (viz Obr. 3), která se mezi druhy ryb liší (např. Tohya et al., 2003; Levine et al., 1979).

Dvojité čípky jsou na rozdíl od těch jednoduchých citlivé na delší vlnové délky a jejich specifická citlivost často souvisí s barvami pozadí prostředí, v němž se ryby vyskytují. Ve spoustě habitatů se pozadí mění s úhlem, pod kterým je sledováno, tudíž dvojité fotoreceptory jsou po sítnici roz distribuovány podle barevnosti té části pozadí, která je v dané oblasti sítnice vnímána (Temple et al., 2010; Dalton et al., 2014). Pokud je absorpce fotoreceptoru naladěna na spektrum pozadí, které vnímá, kontrast tmavých objektů se vůči pozadí zvyšuje. Koexprese opsinů v jedné buňce může být díky tomuto zvyšování kontrastu vůči pozadí potenciálně výhodná při detekci kořisti, predátorů i sexuálních partnerů, avšak zároveň může zhoršit schopnost rozlišování jednotlivých barev (Lythgoe, 1968; Dalton et al., 2014).

Obrázek 3: Mozaika tvořená čípky na sítnici (A) dánia pruhovaného *Danio rerio* (lineární mozaika) a (B) medaky *Oryzias latipes* (čtvercová mozaika). Fialově SWS1 čípky, modře SWS2 čípky, zeleně RH2 čípky a červeně LWS čípky. Upraveno podle Tohya et al., 2003.



Kromě různé distribuce dvojitých čípků exprimujících rozdílné sady opsinů na sítnici ryb vnímajících různě barevná pozadí v čistě vodním prostředí obdobný fenomén existuje i u hladinovky čtyřoké, *Anableps anableps*, která je příkladem extrémní spektrální heterogenity. Její sítnice je rozdělena do dvou částí: na ventrální region dopadá světlo z prostředí nad hladinou, kdežto dorzální část sítnice přijímá světlo z vody. Na ventrální retině je z velké části exprimován gen pro zelený opsin a na té dorzální gen pro červený opsin (Owens et al., 2012).

Zrakové schopnosti ryb podléhají adaptacím závislým na jejich životních strategiích a vlastnostech prostředí. V čistších vodách sloupce lépe proniká zelená a modrá část světelného spektra, zatímco vody s vysokým obsahem chlorofylu propouští nejvíce červené světlo, ač je prostupnost takového prostředí značně limitována a intenzita světla tak rychle klesá. Ryby žijící v různých světelných podmínkách pak často využívají geny citlivé právě v přítomném spektru (Carleton et al., 2016). Zároveň se vlastnosti zraku mění i s typem potravy – například ryby živící se zooplanktonem velmi často exprimují na sítnici opsin citlivý na ultrafialové světlo, které výrazně usnadňuje detekci drobné kořisti (Losey et al., 2000). Taktéž se předpokládá role specifických vzorců teritoriálního chování u některých korálových ryb, jež mají na těle ultrafialové ornamenty (Siebeck, 2004).

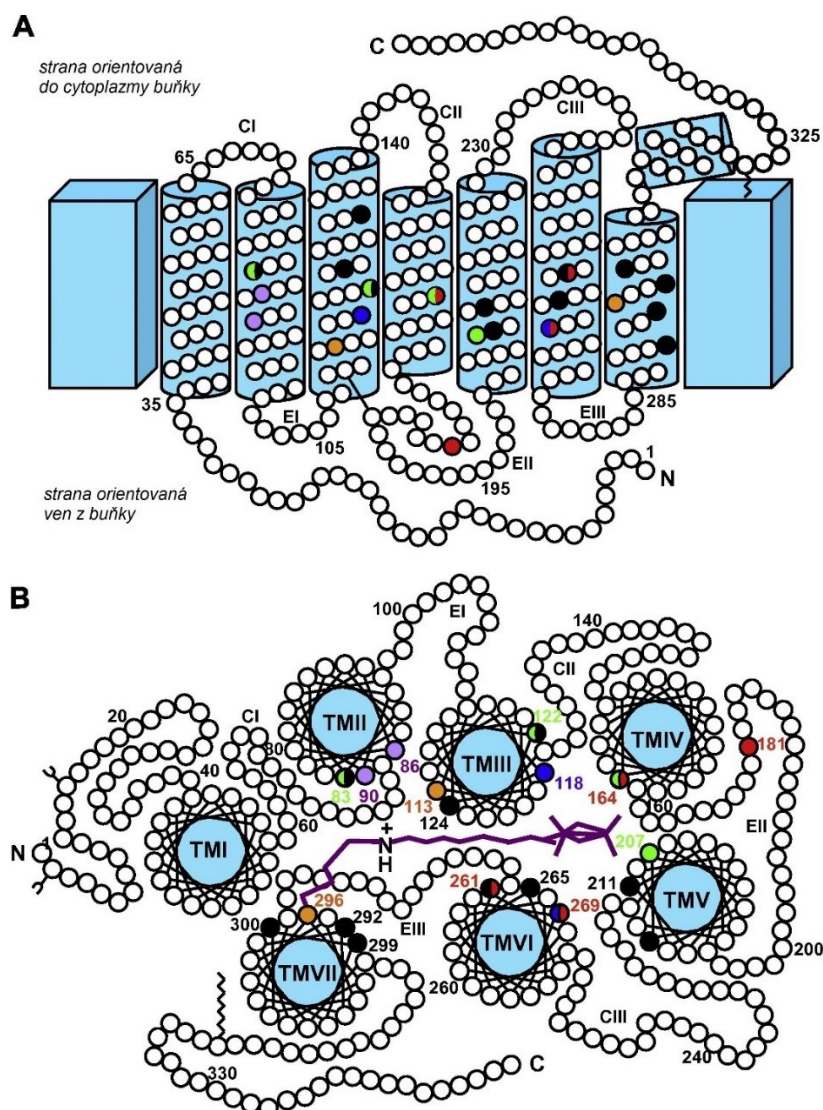
1.3 Molekulární změny citlivosti opsinů

Změny citlivosti na vlnové délky se mohou odehrát již na úrovni samotného genu pro opsin, kdy i jediná bodová mutace v DNA vedoucí ke změně aminokyseliny v sekvenci proteinu může vést k posunu senzitivity opsinu o několik nanometrů na škále viditelného spektra. Bodové mutace se mohou dále počítat, avšak takových klíčových míst může být v sekvenci jen několik, jejich přebytek by jinak mohl vést k nefunkčnímu proteinu (Bowmaker, 2008). Variabilita sekvence DNA jednotlivých opsinů se může lišit díky různému selekčnímu tlaku během evoluce, například u afrických cichlid z jezera Malawi mají opsiny citlivé na nejnižší a nejvyšší vlnové délky mají nejvíce variabilní sekvenci (Hofmann et al., 2009).

Ancestrálně mají opsiny kostnatých ryb několik klíčových pozic pro úpravy absorpčního maxima. Pro červené LWS opsiny jsou to pozice 164, 181, 261, 269 a 292 (číslo aminokyseliny odpovídá referenční pozici v bovinním rodopsinu). U modrých SWS2 opsinů hrají hlavní roli pozice 94, 97, 118 a 265 (Lin et al., 2017) (obecně je u modrých opsinů obratlovců důležitých i dalších devět pozic: 44, 46, 91, 109, 116, 122, 261, 269 a 292; Yokoyama, 2008). Fialové SWS1 opsiny mají zásadní pozice dvě, 86 a 90, které obecně způsobují citlivost opsinu na ultrafialové světlo u neptačích obratlovců. Tyto dvě pozice jsou v rámci paprskoploutvých ryb konzervativní a další substituce jsou velmi časté na pozicích 114 a 118 (Lin et al., 2017). Ve změně citlivosti SWS1 také mohou hrát roli další pozice (jmenovitě 46, 49, 52, 91, 93, 97, 109, 113 a 116; Yokoyama, 2008). Zelené RH2 opsiny kostnatých ryb mají hlavní klíčové pozice 97, 122, 207 a 292, vliv na citlivost mohou mít i záměny na pozicích 49, 52, 86, 90, 91, 93, 109, 113, 114, 116 a 118. Tandemové duplikace těchto genů se udály nezávisle několikrát u předků velkých skupin kostnatých ryb (Lin et al., 2017; Yokoyama, 2008). Některé z těchto klíčových pozic jsou znázorněny na Obrázku 4.

Záměny na těchto pozicích mohou mít zásadní následky na zrakových schopnostech ryb. Například ryby, které ztratily F86 v SWS1 opsinu, nedokáží detekovat ultrafialové světlo (Tada et al., 2009). Zároveň existuje hypotéza o ochraně sítnice před ultrafialovým zářením ztrátou UV senzitivity. V tom případě by takováto ztráta u druhů žijících v mělkých vodách (např. čtverzubců) taktéž zajišťovala formu ochrany buněk sítnice před škodlivostí UV záření (You et al., 2014; Lin et al., 2017). Přítomnost fialového SWS2B pigmentu u čtverzubečků rodu *Takifugu* a *Tetraodon* či cichlid dokazuje, že u ryb v nepřítomnosti SWS1 pigmentu citlivého na fialovou část spektra tuto funkci přebírá původně modrý pigment SWS2 (Parry et al., 2005). U bazálních obratlovců je SWS1 opsin nejspíše citlivý na ultrafialové světlo. Záměna fenylalaninu za tyrosin na pozici 86 konkrétně u tohoto opsinu posouvá maximální absorbovanou vlnovou délku z 360 nm na 420 nm, tedy z ultrafialové do fialové části spektra (Cowing et al., 2002).

Obrázek 4: Schematické znázornění molekuly opsinu se sedmi transmembránovými helixy (A). Uspořádání transmembránových helixů a molekula chromoforu (fialově) uvnitř kapsle, kterou tvoří (B). Převzato z Bowmaker, 2008.



Pokud je u zelených RH2 opsinů na pozici 122 kyselina glutamová, citlivost opsinu je posunuta do zelené části spektra (nad 495 nm). Avšak glutamin na stejné pozici posouvá citlivost do modré části viditelného spektra. Substituce jediné aminokyseliny tak způsobuje posun o 15 nm (Chinen et al., 2005).

Rodopsiny kostnatých ryb mají také čtyři zásadní klíčové pozice: 83, 122, 261 a 292 (Lin et al., 2017), přičemž roli mohou hrát i další (96, 102, 194 a 195; Yokoyama, 2008). Nejčastější substitucí u tyčinkových opsinů je D83N (Lin et al., 2017). V případě D83N mutace se předpokládá její výhoda pro prostředí s nedostatkem světla, jelikož je přítomna například u některých velryb (ačkoli zde je její přítomnost v opsinech ovlivněná spíše hloubkou, v níž velryby lobí, než evoluční historií; Dungan et al., 2016), netopýrů a hlubokomořských ryb (Sugawara et al., 2010; Hunt et al., 2001). Zatímco u afrických cichlid převládá D83, neotropické cichlidy mají N83 s reverzní substitucí N83D s pravděpodobnou adaptací na lepší světelné podmínky – substituce asparaginu za kyselinu asparagovou posouvá citlivost opsinu k vyšším vlnovým délkám (Sugawara et al., 2010; Hauser et al., 2017). Africké cichlidy se substitucí D83N obývají hlubší vody (Sugawara et al., 2010) a vykazují další morfologickou adaptaci ke svému specifickému způsobu života – velké oči (např. Turner a Stauffer, 1998).

1.4 Vývojová plasticita zrakového aparátu

V průběhu ontogeneze jedince může být i exprese opsinů na sítnici proměnlivá, pevně daná charakteristika druhu, často spojená se změnou životních strategií (Carleton et al., 2008). Přestože ryby v dospělosti využívají jen některé ze svého repertoáru genů pro opsiny, mohou v průběhu svého růstu exprimovat i ty geny, jež později v životě aktivně nevyužívají. S vysokou pravděpodobností se jedná o mechanismus, který zabraňuje ztrátě těchto genů v evoluci (Spady et al., 2006). V mnoha případech jsou nároky na zrakový systém larválních stádií a dospělců velmi odlišné. Nejvýrazněji je to patrné u hlubokomořských ryb, jejichž plůdek je součástí planktonu mělkých vod a teprve později se vydává do hlubin (Randall a Farrell, 1997). Taktéž je známo, že se v průběhu ontogeneze mění citlivost na ultrafialové světlo, jako je tomu například u pstruhů. Potěr žijící v mělkých vodách a živící se planktonem ultrafialovou část spektra vnímá, kdežto dospělé ryby z hlubších vod již ne, poněvadž ultrafialová složka barevného spektra hluboko ve vodním sloupci neproniká (Bowmaker a Kunz, 1987). A dalším příkladem jsou životní fáze katadromních ryb, kdy se jim mění expresní profil sítnice při migracích (Wang et al., 2014).

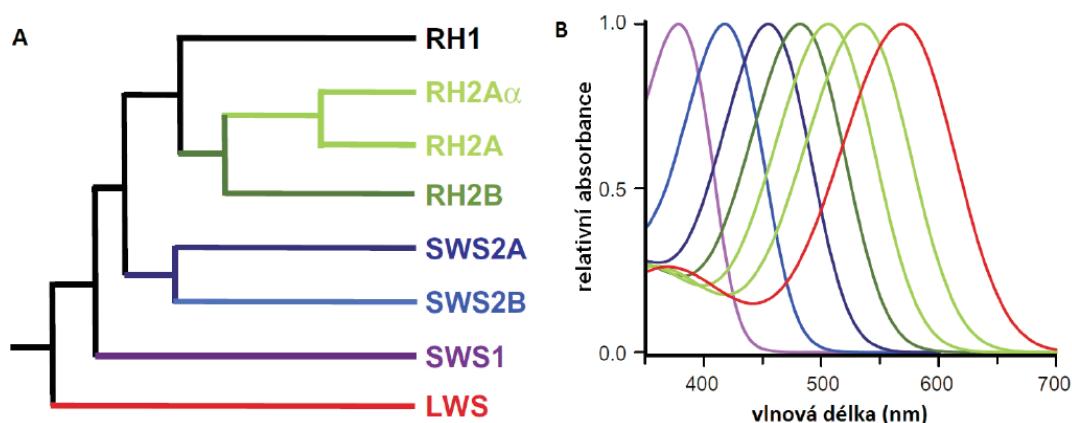
Kromě změn v expresi opsinových genů u různých vývojových stádií druhu mohou tyto změny nastávat i u dospělců. V takovém případě se často jedná o rychlou odpověď na změnu

prostředí, což může zajišťovat výhodu při krátkodobých změnách světelných podmínek, například při období dešťů či přemnožení sinic a řas, což mění turbiditu vody (Ehlman et al., 2015). Změny v expresi opsinů byly pozorovány hned několikrát i v akvariijních chovech, kdy se u ryb přenesených z přirozeného prostředí začaly měnit poměry exprimovaných opsinů na sítnici (např. Hofmann et al., 2010). Rychlé odpovědi změnou exprese na disturbance v prostředí jsou nejspíše umožněny také koexpresí opsinových genů na jednotlivých světločivných buňkách (Dalton et al., 2014). Exprese opsinů se u některých druhů ryb zdá být regulována striktněji, proto to vypadá, že některé druhy jsou citlivější na změnu prostředí než jiné (Hofmann et al., 2010). Plasticita zrakového aparátu u dospělců mohla hrát roli například v radiacích cichlid usnadněním invaze do nového prostředí a umožněním přežít změny (Nandamuri et al., 2017).

1.5 Vlastnosti zraku afrických cichlid

V genomu afrických cichlid je přítomno sedm genů pro barevné (čípkové) opsiny. Obr. 5A znázorňuje fylogenetické vztahy mezi těmito opsiny a zároveň poukazuje na genové duplikace ve skupinách modrých SWS2 a zelených RH2 opsinů. Duplikace RH2A opsinu je nejspíše omezena pouze na africké cichlidy. Obr. 5B potom ilustruje rozdílnou absorbanci v rámci barevných opsinů (Bowmaker a Hunt, 2006). Cichlidy zajišťují svou citlivost na světlo

Obrázek 5: Fylogeneze zrakových opsinů u afrických cichlid (A) a znázornění jejich absorbovaných vlnových délek (B). Podle Bowmaker a Hunt, 2006.



expresí primárně tři z těchto genů pro opsiny přítomné na čípcích, což se ukázalo při studiu těchto ryb v jezeře Malawi. U ryb žijících v mělkých vodách, ať už na písčitém nebo kamenitém substrátu, na rozdíl od těch žijících například v habitatech zarostlých vodní vegetací jsou dvojité čípkové čípkové méně citlivé na červenou část spektra (Parry et al., 2005).

Na sítnici cichlid se většinou exprimují 3–4 opsiny ve třech hlavních kombinacích. První možností je zrak zaměřený hlavně na krátké vlny světelného spektra, kdy jsou na sítnici exprimovány SWS1, RH2B a RH2A opsiny. Zrak zaměřený na střední vlnové délky využívá hlavně SWS2B, RH2A a LWS opsiny. Při specializaci na dlouhé vlnové délky jsou exprimovány SWS2A, RH2A a LWS. Pokud je exprimován i čtvrtý opsin, míra jeho exprese se pohybuje kolem 5–18 % (Hofmann et al., 2009; O’Quin et al., 2010).

V jezeře Malawi byly ryby rozděleny do dvou kládů: tzv. mbuna, tedy cichlidy, které žijí na kamenitých svazích, a non-mbuna. Mbuna cichlidy často exprimují na jednoduchých čípcích dva opsiny, SWS1 a SWS2B, a na dvojitých čípcích LWS, zatímco non-mbuna cichlidy na jednoduchých čípcích exprimují ještě třetí opsin, SWS2A (Hofmann et al., 2009).

Cichlidy jezera Tanganyika vykazují vysokou míru exprese SWS1 na jednoduchých čípcích spolu s RH2A a LWS opsiny na dvojitých čípcích, nebo kombinaci SWS2A na jednoduchých čípcích s koexpresí RH2B a RH2A na dvojitých čípcích (O’Quin et al., 2010).

U cichlid žijících v jezeře Victoria je častá kombinace SWS2A na jednoduchých čípcích a koexprese RH2A s LWS na dvojitých čípcích (Hofmann et al., 2009). U ryb žijících na písčitých a bahnitých substrátech se zjistilo, že mají diverzifikované alely pro červený LWS opsin a tyčinkový opsin RH1. Voda v jezeře je vysoce znečištěná. Druhy žijící ve větších hloubkách mají citlivost rodopsinu posunutou směrem k červené části spektra. Funkční změny u rodopsinů mezi druhy v mělčinách a hlubinách tak mohou být adaptací pro efektivní využití přítomného světla. Oproti tomu u druhů žijících u hladiny je senzitivita červeného LWS opsinu posunuta ve směru modré části spektra. Takováto adaptace u červených opsínů může sloužit k rozlišování jednotlivých barev v prostředí mělkých vod s lepšími světelnými podmínkami (Terai et al., 2017).

1.5 Fotoreceptorová výbava kaprovitých ryb

Zatímco o molekulární podstatě barevného vidění u cichlid existuje řada studií, o molekulárních mechanismech zraku kaprovitých je známo mnohem méně, ačkoli například závojnátka (*Carassius auratus*) je v oblasti výzkumu zraku modelovým druhem, u něhož byly objeveny tři hlavní skupiny čípků (modré, zelené a červené), zatímco čípků s citlivostí na ultrafialové světlo je na sítnici závojnátky minimum (Palacios et al., 1998).

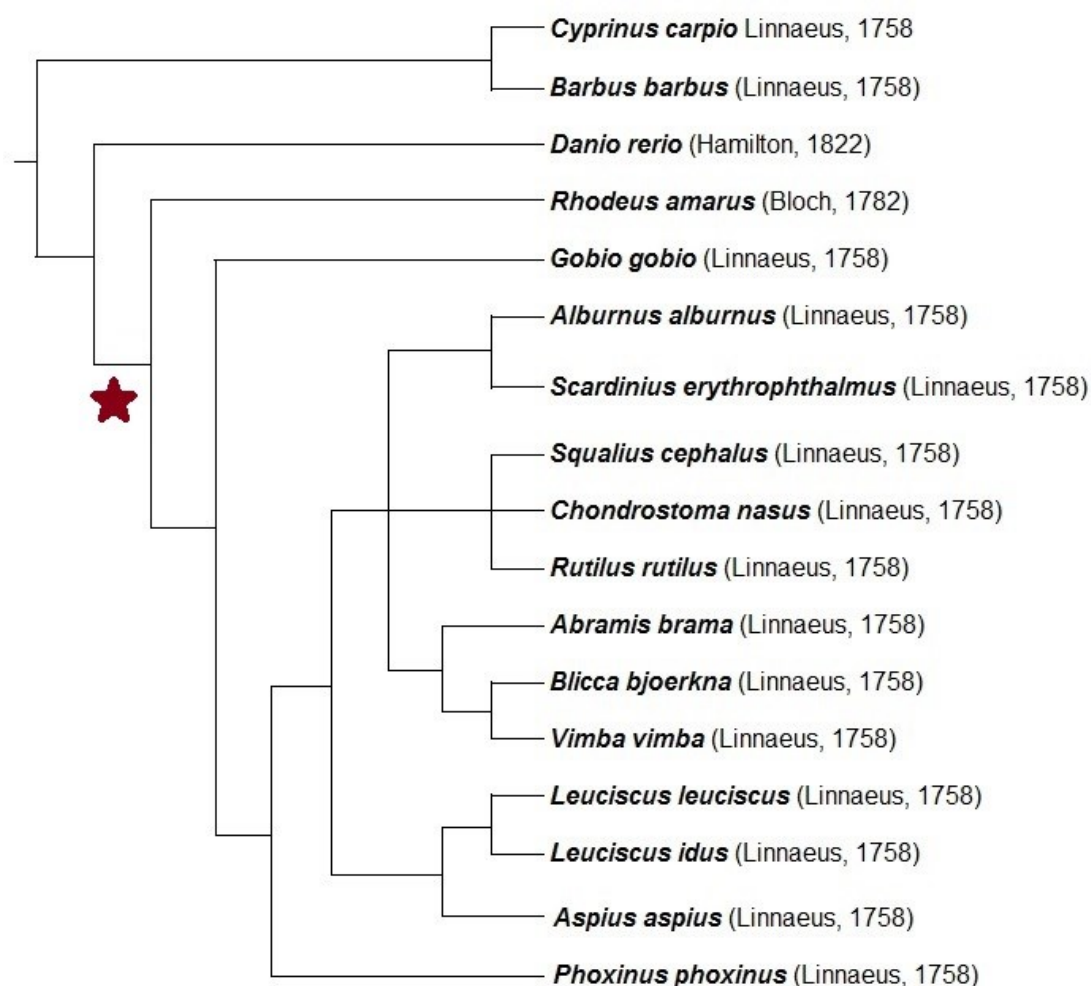
Konkrétně celkový počet a typ opsinových genů je zatím znám jen u modelového druhu dáňka pruhooraného *Danio rerio* (Hamilton, 1822) (Ogawa et al., 2015; Morrow et al., 2016) a díky několika osekvenovaným genomům kaprovitých ryb (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758, *Pimephales promelas* Rafinesque, 1820).

Dáňio pruhované *Danio rerio* exprimuje na tyčinkách sítnice dva rodopsiny, RH1-1 a RH1-2. RH1-2 rodopsin vznikl duplikací nejspíše někde na bázi velké skupiny kostnatých ryb Ostarioclupeomorpha (Morrow et al., 2016). Tato skupina zahrnuje několik řádů ryb: bezostné (Clupeiformes), kaprovité (Cypriniformes), trnobřiché (Characiformes), sumce (Siluriformes) a nahohřbeté (Gymnotiformes). Na sítnici dáňia pruhovaného se nacházejí čtyři skupiny čípků pro barevné vidění: ty exprimující jeden ultrafialový SWS1 opsin, jeden modrý SWS2 opsin, čtyři zelené opsiny (RH2-1, RH2-2, RH2-3 a RH2-4) a skupina exprimující dva červené opsiny, LWS1 a LWS2 (Luo et al., 2004; Takechi et al., 2008; Tsujimura et al., 2007; Tsujimura et al., 2010). I přes velký počet opsinů je v dospělosti 25 % čípků na sítnici dáňia pruhovaného citlivých na ultrafialové světlo (Robinson et al., 1993).

2 Cíle práce

Tato práce se zaměřuje na dvě velké skupiny kostnatých ryb: africké vrubozubcovité (také nazývané cichlidy; čeleď Cichlidae) a středoevropské kaprovité ryby (čeleď Cyprinidae; z níž se zde zaměřuji především na podčeleď Leuciscinae, vyznačeno hvězdičkou ve fylogenezi kaprovitých ryb, viz Obr. 6). Cílem této práce je zjistit, které opsiny na sítnici exprimují, jaké je aminokyselinové složení těchto opsinů a které aminokyseliny jsou na konkrétních variabilních pozicích proteinu. U kaprovitých ryb dále porovnávám expresní profily dospělců a larválních stadií několika vybraných druhů s cílem zjistit, zda lze pozorovat vývojovou plasticitu.

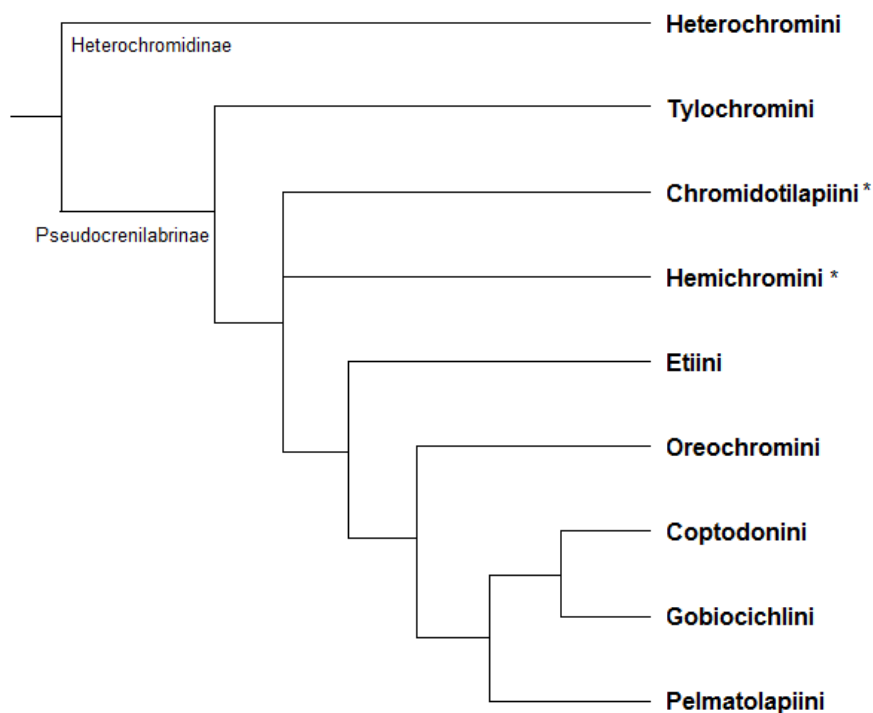
Obrázek 6: Fylogeneze cílových druhů kaprovitých ryb. Upraveno podle fylogenetického stromu založeného na cytochromu b, Perea et al., 2010. Druhy *Cyprinus carpio*, *Barbus barbus* a *Danio rerio* přidány podle Saitoh et al., 2006.



Z afrických cichlid se část této práce zaměřuje konkrétně na říční cichlidy z několika tribů (fylogeneze tribů viz Obr. 7). Nejvíce prozkoumanou skupinou afrických cichlid jsou ryby z oblasti velkých jezer na východě kontinentu, zejména ty z jezer Malawi a Tanganyika. Zde je

práce pro změnu založena na říčních druzích ze západní Afriky, u kterých se zabývá jak úrovní genů, o jejichž sekvencích se u těchto druhů zatím neví, tak i úrovní transkriptomu. Expresní profily říčních cichlid však nezkoumám kvůli vývojové plasticitě, zde mne zajímají mezidruhové rozdíly.

Obrázek 7: Schéma fylogeneze tribů cílových druhů afrických cichlid spolu se zařazením tribu Oreochromini, do něhož patří tilápie nilská Oreochromis niloticus, používaná jako referenční druh. Sestaveno podle Dunz a Schliewen, 2013; () doplněno podle Schwarzer et al., 2009.*



3 Materiál a metody

3.1 Vzorkování ryb

Můj výzkum byl zaměřen na dvě cílové skupiny kostnatých ryb: na ryby z čeledi Cyprinidae, kde jsem se zabývala hlavně druhy podčeledi Leuciscinae, a čeleď vrbozubcovitých, Cichlidae.

Pro své analýzy prováděné na kaprovitých rybách jsem používala vzorky dospělců (viz Tabulka 1) zajištěné při komerčních výloveh jihučeských rybníků a během účasti na odloveh skupiny FishEcu z Hydrobiologického ústavu AV ČR v Českých Budějovicích a vzorky larválních stadií nachytané na několika lokalitách ve spolupráci s Ústavem životního prostředí PřF UK. Tyto odchty byly prováděny v roce 2016 na dvou lokalitách: celkem čtyřikrát v Pikovicích na Sázavě (28.4., 18.5., 14.6. a 26.8.) a jednorázově na Vltavě ve Štěchovicích-Šlemíně (26.8.). V roce 2017 byl potěr vzorkován jednorázově na pěti lokalitách: 24.5. v Pikovicích (Sázava), 2.6. pod přehradou ve Štětí (Labe) a Libčicích severně od Prahy (Vltava), 16.6. v Soběslavi (Lužnice) a 7.7. v Srbsku (Berounka).

Tabulka 1: Druhy kaprovitých ryb a lokality jejich vzorkování v rámci České republiky. *) Lokalita odchty larválních a juvenilních stadií podle výsledků z barcodingu (viz příslušná kapitola ve výsledcích).

druh	podčeď	lokalita odchty dospělců	lokalita odchty juvenilů*
<i>Cyprinus carpio</i> Linnaeus, 1758 karp obecný	Cyprininae	Horusický rybník	Štětí (Labe)
<i>Barbus barbus</i> (Linnaeus, 1758) parma obecná	Barbinae	Pikovice (Sázava), Liblín (Berounka)	-
<i>Rhodeus amarus</i> (Bloch, 1782) hořavka hořká	Acheilognathinae	Pikovice (Sázava)	Pikovice (Sázava)
<i>Gobio gobio</i> (Linnaeus, 1758) hrouzek obecný	Gobioninae	Pikovice (Sázava)	Pikovice (Sázava), Libčice (Vltava)
<i>Alburnus alburnus</i> (Linnaeus, 1758) ouklej obecná	Alburninae	Lipno nad Vltavou	Pikovice (Sázava), Srbsko (Berounka)
<i>Scardinus erythrophthalmus</i> (Linnaeus, 1758) perlín ostrobřichý	Leuciscinae	Klíčava	-
<i>Squalius cephalus</i> (Linnaeus, 1758) jelec tloušť	Leuciscinae	Malšín (Vltava mezi Rožmberkem a Vyším Brodem)	Pikovice (Sázava), Štěchovice (Vltava), Štětí (Labe), Libčice (Vltava), Soběslav (Lužnice), Srbsko (Berounka)
<i>Chondrostoma nasus</i> (Linnaeus, 1758) ostreřetka stěhovavá	Leuciscinae	Děčín (Labe)	Pikovice (Sázava), Libčice (Vltava)
<i>Rutilus rutilus</i> (Linnaeus, 1758) plotice obecná	Leuciscinae	Lipno nad Vltavou	Pikovice (Sázava), Štěchovice (Vltava), Štětí (Labe), Libčice (Vltava)
<i>Abramis brama</i> (Linnaeus, 1758) cejn velký	Leuciscinae	Klíčava, Horusický rybník	Pikovice (Sázava), Štětí (Labe), Libčice (Vltava)
<i>Blicca bjoerkna</i> (Linnaeus, 1758) cejnek malý	Leuciscinae	Lipno nad Vltavou	Pikovice (Sázava)
<i>Vimba vimba</i> (Linnaeus, 1758) podoustev říční	Leuciscinae	Pikovice (Sázava)	Pikovice (Sázava), Štětí (Labe)
<i>Leuciscus leuciscus</i> (Linnaeus, 1758) jelec proudník	Leuciscinae	Malšín (Vltava mezi Rožmberkem a Vyším Brodem)	Pikovice (Sázava), Libčice (Vltava)
<i>Leuciscus idus</i> (Linnaeus, 1758) jelec jesen	Leuciscinae	Horusický rybník	Libčice (Vltava)
<i>Aspius aspius</i> (Linnaeus, 1758) bolen dravý	Leuciscinae	Klíčava	Libčice (Vltava)

Vzorky říčních cichlid (viz Tabulka 2) pochází z výlovů v několika říčních systémech v Kamerunu v letech 2016 a 2017 spojených se sběrem vzorků pro výzkum endemických druhů cichlid kráterových jezer Barombi Mbo a Bermin. Vzorkování v Kamerunu jsem se osobně neúčastnila.

Tabulka 2: Druhy afrických říčních cichlid použité v této práci a lokality jejich odchytu. **) IUCN status podle aktuálních záznamů na Fishbase.org. Cílové geny tilápie *Oreochromis niloticus* použity jako referenční.

druh	tribus	IUCN status**	lokality odchytu
<i>Heterochromis multidens</i> (Pellegrin, 1900)	Heterochromini	Least Concern (LC)	Boumba River, East Province, Kamerun
<i>Tylochromis sp.</i>	Tylochromini	-	Memé River, South-West Province, Kamerun
<i>Benitochromis conjunctus</i> Lamboj, 2001	Chromidotilapii	Endangered (EN)	Muyuka River, South-West Province, Kamerun
<i>Benitochromis finleyi</i> (Trewavas, 1974)	Chromidotilapii	Endangered (EN)	Kumba, South-West Province, Kamerun
<i>Chromidotilapia linkei</i> Staek, 1980	Chromidotilapii	Endangered (EN)	Kombone River, South-West Province, Kamerun
<i>Chromidotilapia loennbergi</i> (Sauvage, 1882)	Chromidotilapii	Least Concern (LC)	Barombi Kotto Lake, South-West Province, Kamerun
<i>Parananochromis caudifasciatus</i> (Boulenger, 1913)	Chromidotilapii	Least Concern (LC)	Lomié, East Province, Kamerun
<i>Pelvicachromis kribensis</i> (Boulenger, 1911)	Chromidotilapii	-	Kumba, South-West Province, Kamerun
<i>Hemichromis elongatus</i> (Guichenot, 1861)	Hemichromini	Least Concern (LC)	Barombi Kotto Lake, South-West Province, Kamerun
<i>Hemichromis fasciatus</i> Peters, 1857	Hemichromini	Least Concern (LC)	Barombi Kotto Lake, South-West Province, Kamerun
<i>Etiya nguti</i> Schliewen et Stiassny, 2003	Etiini	Data Deficient (DD)	Nguti, Mamfé River, South-West Province, Kamerun
<i>Coptodon kottae</i> (Lönnberg, 1904)	Coptodonini	-	Barombi Kotto Lake, South-West Province, Kamerun
<i>Coptodon sp.</i>	Coptodonini	-	Mamfé, Mamfé River, South-West Province, Kamerun
<i>Gobiocichla ethelwynnae</i> Roberts, 1982	Gobiocichlini	Endangered (EN)	Mamfé, Mamfé River, South-West Province, Kamerun
<i>Pelmatolapia mariae</i> (Boulenger, 1911)	Pelmatolapii		Mamfé, Mamfé River, South-West Province, Kamerun

3.2 Izolace DNA a RNA

Tkáně použité pro izolaci DNA (prsni, případně část hřbetní ploutve) byly skladovány v etanolu při -20 °C, zatímco oči, z nichž se pro izolaci RNA později preparovala sítnice, byly uloženy v roztoku RNA-later v -80 °C. Před samotným uložením do roztoku bylo nutno prostráhnout rohovku a vypreparovat z oka čočku, aby se tkáň roztokem prosytila co nejdříve a bylo zachováno co největší množství RNA, která v opačném případě po usmrcení ryby podléhá rychlé degradaci.

3.2.1 Izolace a zpracování DNA

DNA jsem pro účely této práce izolovala pouze u cichlid, kdy jsem z prsní, případně hřbetní ploutve určeného druhu odebrala kousek tkáně přibližně 4 milimetry velký, vysušila jej

a dále postupovala podle protokolu dodávaného výrobcem kitu (QUIAGEN DNeasy Blood & Tissue Kit). Pro získání co možná nejčistšího vzorku DNA lze po inkubaci tkáně v termobloku při 56 °C a následné centrifugaci přidat 4 µl RNázy a ponechat 2 minuty stát v pokojové teplotě, následně opět pokračovat dle přiloženého protokolu.

Izolovanou DNA jsem následně používala v PCR reakcích s jednotlivými sety primerů (seznam primerů viz Tabulka 3) navrženými pro analýzu cichlid z kamerunských kráterových jezer. Nejprve jsem začínala s následujícím protokolem: iniciační denaturace 5 minut při 94 °C, 35 cyklů střídání denaturační fáze (94 °C, 40 sekund), nasedání primerů (64 °C, 40 sekund) a syntézy DNA (72 °C, 1 minuta), 5 minut dokončení syntézy DNA při 72 °C a zchlazení na 12 °C. V případě, že na gelu po elektroforéze žádný produkt nebyl, přidávala jsem do mixu pro PCR vždy 0,5 µl MgCl₂ a postupně snižovala teplotu nasedání primerů z původních 64 °C až na 52,9 °C (s nižší teplotou se však zvyšuje riziko nespecifického nasedání primeru na templát). Produkty, pokud nějaké z reakce vyšly, byly poslány na osekvenování do firmy Macrogen a poté dále analyzovány, viz níže.

Tabulka 3: Seznam primerů použitých při PCR reakcích na vzorcích cichlid.

gen	Forward primer	Reverse primer
RH1	F1: GATAATCCAAGGTGTGCCTTT	R1: TGTAGTAGTCGACTCCACATGA
	F2: TAGCAACTTCCGCTTTGGGGAG	R2: TAGACATTAGCCTTCAGTAGTTTCCC
SWS1	F1: GCAGATTAAGGAGTCAGAAAGTTC	R1: TGCTCCAGCCAAAGAAAGGTG
	F2: CAAATCACGCTCTGGCTGCAG	R2: CACTGTGTTATCTGAGTGTGCTC
	F3: GAGAAGGAGGTGCTCAAGAATGATC	R3: CAGCTGATCGTGTGTACGTATAAAC
SWS2B	F1: GTCCTTTAGCCAATTATGTTGAGCC	R1: GCTCCTTACCACCAAGAGTTGC
	F2: GGCTCTTTCACCTGCTTCATC	R2: CTACCACAGCAAGAGACCAC
	F3: CTGTTGTTGTTAAAGAAGTTGTTGG	R3: CCACCCCTTCCCTGGTTTG
	F4: CCATCGTCTTCTGCTACTCAC	R4: CCTGCTTATTGAGGAGGATGTAAA
	F5: GACCTGAGACTGGCCACCAT	R5: CTATGTTCAGTATGCGAGCTGTCC
SWS2A	F1: CTAACCGCACAGCGTTCATG	R1: AAAGCTATCACAGCAAGGGACCA
	F2: GGAGTTAAAGGGTTTTCCTGTCAT	R2: GGCCTTGGCTGCCTGTTAAT
	F3: GGCCAGATCTACTTACCATTTC	R3: CTTTAGGACCACAGCTAAGATATG
	F4: CATGCTGTGCCGAGTAAGTAC	R4: GTGCAAATACATATTAATCACACGC
RH2B	F1: GGGGCTATATAACTGTGGCTG	R1: TATCTCAGTACCTTGACCAGCC
	F2: GGTCTGTAAACCCATGGGAAG	R2: GGTTGCTATGCTTTCACCTCATCC
	F3: GGAAGTAATAAAGGAAAACAAAC	R3: TAAATCCTCTGTGTCATCCAC
	F4: GCTGTAACATTTCCAGAGAATATG	R4: CATGGCTGTGGCTGTGAATG
	F5: GCATGTGCATCCTGATGGTTT	R5: CCAAGTAATAAATCTTTTCATGCATGC
RH2A_beta	F1: CAGGTATAAACACCAAGGCAGC	R1: CATGTCTTCATTAGTAAAAATAGCTCTTTT
	F2: GTCCAGGTAATAAATTTCTGAAT	R2: TTGGCAAAAGATTCTCTAATGGGAAT
	F3: AGCTCAGCCTTGTACAACCT	R3: TTGAGGATCTGAGTTCTACACA
RH2A_alpha	F1: CTAATCCCATTTTGGCTGTTTG	R1: GCTTTTATCCAGCTTTTATTCAACATTC
	F2: GGTAATTTCTATTTCTTTCATTTTCATCAT	R2: TAAAATCTGGAAGCAATCATCAATGTC

	F3: GATGGTC <u>W</u> TGGGCTTCCTGG	R3: TAAAATCTGGAAGCAATCATCAATGTC
LWS	F1S: GCTATAATTTGATTGTGACCTAATC	R1: TATGAAAAGAGCCTCTGGGTG
	F1L: GACGGAAATCCACTTTCAAAC	-
	F2: GCAGAAGAGTGGGGAAAACA	R2: TCGAGGTGCGATGTGGTAAT
	F3: GGTCTGCCATCAGCAGCAA	R3: GGTTT <u>G</u> CACACAACATATCCATC
	F4: CTGCTCTTTGGTCCCT <u>G</u> ACA	R4: TGCTGCATGGCAACCTGTGG
	F5: T <u>G</u> TGCTACCTTGCTGTGTGG	R5: ATTTGCCAGAGAAAGCTATATTTAC

3.2.2 Barcoding

Barcoding byl použit pouze pro určení druhu ryby u larválních a juvenilních stadií. Jejich rozměry se pohybovaly v rozmezí 4,5–33 milimetrů (ilustračně viz Obr. 8) a nebylo u nich možné druh určit morfologicky. Celkem bylo touto cestou zpracováno 383 jedinců; z ocasní ploutve jsem vyizolovala DNA podle protokolu přiloženého ke kitu (QIAGEN DNeasy Blood & Tissue Kit; úpravy protokolu viz kapitola 2.2.1). DNA jsem následně použila pro PCR reakci s primery pro cytochrom oxidázu I:

- forward primer: TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC ($T_M = 73,1\text{ }^{\circ}\text{C}$)
- reverse primer: TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA ($T_M = 71\text{ }^{\circ}\text{C}$)

Protokol pro PCR reakci byl následující: iniciační denaturace 2 minuty při $94\text{ }^{\circ}\text{C}$, 35 cyklů střídání denaturační fáze ($94\text{ }^{\circ}\text{C}$, 45 sekund), nasedání primerů ($52\text{ }^{\circ}\text{C}$, 45 sekund) a syntézy DNA ($72\text{ }^{\circ}\text{C}$, 45 sekund), 5 minut dokončení syntézy při $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ a zchlazení na $10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Kontrolu, že reakce proběhla, jsem provedla na gelu elektroforézou a produkty reakce byly odeslány k osekvenování firmě Macrogen. Chromatogramy takto získaných sekvencí jsem zkontrolovala v programu Geneious (<http://www.geneious.com>, Kearse et al., 2012), abych zjistila kvalitu sekvence. Cca 400 bází dlouhé úseky začínající kolem 150 bází původní sekvence jsem zpracovala funkcí BLAST v databázi NCBI ([Blast.ncbi.nlm.nih.gov](http://blast.ncbi.nlm.nih.gov), 2017), abych zjistila, kterému druhu ryby se mnou získané sekvence cytochrom oxidázy I nejvíce podobají.

Obrázek 8: Rozměry larválních stadií ryb se nejčastěji pohybovaly mezi 8 až 15 milimetry. Tento konkrétní jedinec, ouklej obecná *Alburnus alburnus* ze Srbska na Berounce byl 17 mm velký a jeho oko mělo průměr kolem 2 mm.



3.2.3 *Izolace RNA a příprava RNA knihoven*

Pro izolaci RNA bylo nejprve potřeba vypreparovat sítnici z oka (buď přímo v terénu, kdy se samotná sítnice posléze uložila do roztoku RNA-later, či těsně před samotnou izolací v laboratoři). V ideálním případě se oční bulva nejprve očistí od svaloviny, poté se nastříhne od výstupu očního nervu a sítnice se opatrně vyjme i s očním nervem, avšak u deformovaných očí jsem musela postupovat od již perforované rohovky. Sítnice se těsně před samotnou izolací RNA uložila do roztoku pufru a β -merkaptoetanolu, který zabraňuje dalšímu rozkladu tkáně, a postupovala jsem podle protokolu dodávaného výrobcem (QIAGEN RNeasy Mini Kit).

V případě očí menších než 4 milimetry jsem pro izolaci RNA použila celé oko, z něhož jsem předtím vyňala čočku, pokud tak nebylo učiněno před naložením tkáně do roztoku před zmražením. Taktéž jsem postupovala i s larválními stadii, u nichž jsem extrahovala vždy jedno oko preparační jehlou. Pro jeho malou velikost nebylo nutné preparovat čočku.

Pro přípravu transkriptomových knihoven jsem využila NEB protokol, který byl nejprve optimalizován pro vzorky se vstupní koncentrací RNA 200 nanogramů. Množství použitých chemikálií (až na kroky promývání etanolem) byly z ekonomických důvodů sníženy na polovinu. Pro fragmentaci mRNA v kroku 1.2.37 jsem vzorky inkubovala v 94 °C pouze 4 minuty. Místo oddílu 1.8 jsem použila oddíl 6.2 z přílohy A, aby fragmenty byly dlouhé přibližně 450 párů bazí (magnetické kuličky přidané v určitém poměru ke vzorku vyvazují fragmenty specifické délky). A v kroku 1.9.3 jsem pro PCR amplifikaci použila 14 cyklů denaturace a prodlužování fragmentů.

Knihovny kaprovitých ryb byly individuálně značeny tzv. barcody (indexy – krátké sekvence, které rozlišují jednotlivé vzorky), a poté byly osekvenovány na platformě Illumina (dohromady s jinými druhy ryb; celkem bylo „zpoolováno“ vždy 24 individuálních transkriptomů). Poněvadž však Illumina přečte pouze fragmenty dlouhé cca 250 bp a já při přípravě knihoven cílila na ty dlouhé přibližně 450 bp, bylo použito tzv. pair end sekvenování fragmentu z obou stran, kdy se přečtené úseky vzájemně nepřekrývají. Sekvence sloužily jako vstupní data pro práci s transkriptomy, viz níže.

3.3 *Zpracování dat v programu Geneious*

Sekvence jednotlivých genů a celých transkriptomů byly dále zpracovány programem Geneious verze 9.1.8 (<http://www.geneious.com>, Kearse et al., 2012). Cílem bylo získat kompletní kódující sekvenci všech (v případě transkriptomu všech exprimovaných) opsinových genů pro každý studovaný druh. V případě genů je důležité, aby osekvenované fragmenty byly co nejlepší kvality. Primery pro jednotlivé fragmenty byly navrženy tak, aby se kvalitní úseky

fragmentů každého genu alespoň částečně překrývaly, což zajistilo lepší pokrytí úseku, na němž se vyskytují exony pro námi cílené geny. V případě, že by některý z těchto kódujících úseků chyběl nebo byl pokrytý nedostatečně kvalitním úsekem sekvence fragmentu, hrozí, že data pro další analýzu aminokyselin zkreslí výsledky. Data z transkriptomu pokrývají pouze kódující oblasti genu a díky velkému množství přečtených fragmentů zajišťují vyšší pravděpodobnost získání kvalitní kódující sekvence genu.

3.3.1 Práce s geny

Fragmenty jednotlivých genů získané Sangerovým sekvenováním byly nejprve namapovány na referenční geny tilápie *Oreochromis niloticus* (MKQE00000000.2), které obsahovaly exony i introny. Poté jsem ořezala nekvalitní okraje fragmentů a vygenerovala konsensus sekvenci genu, která byla posléze anotována podle reference (přes *Live Annotate & Predict* jsem vložila složku s referencemi tilápie). Exony genu byly extrahovány a přeloženy do sekvence proteinu. Proteiny stejného genu od několika jedinců jsem alignovala spolu s kravským rodopsinem, který slouží jako šablona pro určení číslování pozic proteinu. V těchto pozicích jsem vyhledala všechny, které se mezi jednotlivými druhy ryb lišily, a vyznačila v nich klíčové pozice měnící absorpční schopnosti proteinu, jež byly určeny podle tabulek od Yokoyama, 2008. Také jsem vyznačila aminokyseliny na dalších pozicích, které jsou natočeny k chromoforu (podle Carleton et al., 2005 a Palczewski et al., 2000) – ačkoli je Yokoyama jako klíčové neuvádí, potenciálně mohou mít vliv na celkovou schopnost absorpce světla o určitých vlnových délkách.

Po zpracování dat z transkriptomu (viz níže), jsem použila získané sekvence genů ke stejné analýze aminokyselinových pozic i pro další druhy cichlid a kaprovité ryby. Zároveň jsem do analýzy zapracovala i geny tilápie, jež jsem předtím používala jako referenční. Při prošetření situace u kaprovitých ryb jsem kromě genů získaných z našich transkriptomů použila i referenční geny pro kapra *Cyprinus carpio* a z databáze jsem si stáhla transkripty dospělého (SRX3010468) a larválního stadia (ERX008919) dánia pruhovaného (*Danio rerio*).

Na závěr byl za použití alignmentu všech genů vypočítán fylogenetický strom Bayesovskou metodou na 10 milionů generací softwarem MrBayes verze 2.3.6 (Huelsenbeck a Ronquist, 2001).

3.3.2 Práce s transkripty

Nejprve byly spárovány forward a reverse úseky fragmentů přes možnost *Set Paired Reads*, kde jsem změnila předpokládanou vzdálenost mezi úseky ze 200 na 300 bazí. Poté jsem takto upravené sekvence nejprve namapovala na referenční geny tilápie *Oreochromis niloticus*

(na rozdíl od práce s geny tyto reference obsahovaly pouze exony) s nastavením citlivosti na *Medium Sensitivity/Fast*, abych zjistila, zda jsou vůbec v daném transkriptomu přítomny cílené opsinové geny, a poté jsem znovu celý balíček fragmentů z transkriptomu mapovala podle možnosti použití referenčních genů jednotlivých druhů, viz níže. Výsledkem byl pokaždé alignment sekvencí namapovaný na jednotlivé geny, ze kterých jsem odmazala fragmenty, které do úseku samotného genu buď vůbec nezasahovaly, anebo zasahovaly méně než jednou třetinou sekvence.

V případě cichlid, pro něž jsem žádné referenční geny daného druhu či druhu příbuzného neměla, jsem namapováním fragmentů na referenci tilápie získala konsensus sekvence genů, které jsem uložila, vytvořila si z nich nové referenční geny a znovu je použila k mapování celého balíčku fragmentů z transkriptomu.

Pro většinu kaprovitých ryb jsem měla referenční geny dospělců, na které jsem mapovala příslušné fragmenty. Pokud se jednalo o stejný druh, nastavila se citlivost mapování na *Low Sensitivity/Fastest*. V případě stejného rodu ryby byla citlivost operace nastavena na *Medium-Low Sensitivity/Fast*. Další postup byl shodný jako u cichlid.

Pokud v transkriptomech larválních stadií byly na určitých pozicích záměny bází ve fragmentech, vyhledala jsem k nim v daném alignmentu spárované fragmenty, vyextrahovala jsem tyto variabilní části promazáním ostatních fragmentů, vytvořila jsem z nich konsensus sekvenci a přidala ji k balíčku referencí pro daný druh. Pakliže byl odlišný úsek kratší než celý gen, opětovným mapováním fragmentů jsem jej postupně prodlužovala.

3.3.3 Práce s aminokyselinovými sekvencemi

Po všech úpravách namapovaných fragmentů jsem vytvořila konsensus sekvence genů, které jsem přes funkci *Multiple Align* seřadila (vždy jednu skupinu opsinů dohromady, tudíž jsem měla po jednom alignmentu pro všechny RH1, SWS1, SWS2, RH2 a LWS opsiny). Každý z pěti alignmentů jsem přeložila do proteinu, poté jsem opět přes funkci *Multiple Align* přidala sekvenci bovinního rodopsinu (NP001014890) – rodopsin tura (*Bos taurus*) se používá pro odpočítání jednotlivých pozic v proteinech zrakových opsinů. Vypsala jsem všechny pozice, na nichž se aminokyseliny v proteinových sekvencích mezi jednotlivými druhy ryb lišily, a vyznačila v nich klíčové pozice podle Yokoyama, 2008 a další pozice, které by mohly mít vliv na výslednou citlivost proteinu, podle Carleton et al., 2005.

3.4 Zjištění expresních profilů opsinových genů

Dále jsem se zaměřovala na míru exprese u jednotlivých druhů. Po úpravách fragmentů při práci s transkriptomy byl počet sekvencí v souborech mapování na jednotlivé referenční

geny vypočítán programem. Ze součtu fragmentů všech opsinů se vypočítal procentuální podíl každého opsinu na fotopickém vidění jedince. Seznam získaných transkriptomových dat pro cichlidy i kaprovité ryby viz Tabulka 4.

Tabulka 4: Seznam druhů cichlid a kaprovitých ryb a transkriptomů, které byly použity pro zjištění jejich expresních profilů

	dospělec	larvální stadium
čeleď CICHLIDAE		
<i>Heterochromis multidentis</i>	osekvenován referenční transkriptom	-
<i>Tylochromis sp.</i>	osekvenován referenční transkriptom	-
<i>Chromidotilapia loennbergi</i>	osekvenován referenční transkriptom	-
<i>Chromidotilapia linkei</i>	osekvenován referenční transkriptom	-
<i>Parananochromis caudifasciatus</i>	osekvenován referenční transkriptom	-
<i>Pelvicachromis kribensis</i>	osekvenován referenční transkriptom	-
<i>Etia nguti</i>	osekvenován referenční transkriptom	-
<i>Hemichromis elongatus</i>	osekvenován referenční transkriptom	-
<i>Coptodon kottae</i>	osekvenován referenční transkriptom	-
<i>Pelmatolapia mariae</i>	osekvenován referenční transkriptom	-
čeleď CYPRINIDAE		
<i>Cyprinus carpio</i>	transkriptom převzat z Musilová et al., v přípravě	osekvenován referenční transkriptom
<i>Barbus barbus</i>	osekvenován referenční transkriptom	-
<i>Danio rerio</i>	transkriptom z databáze GenBank (SRX3010468)	transkriptom z databáze GenBank (ERX008919)
<i>Alburnus alburnus</i>	osekvenován referenční transkriptom	osekvenován referenční transkriptom
<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	osekvenován referenční transkriptom	-
<i>Squalius cephalus</i>	osekvenován referenční transkriptom	osekvenován referenční transkriptom
<i>Rutilus rutilus</i>	osekvenován referenční transkriptom	osekvenován referenční transkriptom
<i>Abramis brama</i>	osekvenován referenční transkriptom	osekvenován referenční transkriptom
<i>Blicca bjoerkna</i>	-	osekvenován referenční transkriptom
<i>Vimba vimba</i>	osekvenován referenční transkriptom	-
<i>Leuciscus leuciscus</i>	osekvenován referenční transkriptom	-
<i>Leuciscus idus</i>	osekvenován referenční transkriptom	-
<i>Aspius aspius</i>	osekvenován referenční transkriptom	osekvenován referenční transkriptom

4 Výsledky

4.1 Barcoding larválních stadií

Z odchytů larválních stadií ryb bylo celkem zpracováno 383 jedinců z celkem šesti lokalit na území České republiky. Z 383 vzorků bylo barcodingem úspěšně určeno 372 jedinců (viz Tabulka 5), pouze u pěti z nich vyšla identita pod 97 %. U pěti ze zbývajících jedenácti vzorků nevyšla sekvence cytochrom oxidázy I a šest jedinců bylo sporně určeno jako *Leuciscus leuciscus*/*Leuciscus idus* se shodným percentilem identity.

Tabulka 5: Shrnutí druhů, které byly úspěšně určeny barcodingem, a lokality jejich odchyty.

druh	čeleď podčeleď	Pikovice (Sázava)	Štěchovice (Vltava)	Štětí (Labe)	Libčice (Vltava)	Soběslav (Lužnice)	Srbsko (Berounka)	celkem
<i>Barbatula barbatula</i> (Linnaeus, 1758) mřenka mramorovaná	Nemacheilidae	1	0	0	0	0	0	1
<i>Carassius gibelio</i> (Bloch, 1782) karas stříbřitý	Cyprinidae Cyprininae	0	0	0	1	0	0	1
<i>Cyprinus carpio</i> Linnaeus, 1758 kapr obecný	Cyprinidae Cyprininae	0	0	2	0	0	0	2
<i>Rhodeus amarus</i> (Bloch, 1782) hořavka hořká	Cyprinidae Acheilognathinae	22	0	0	0	0	0	22
<i>Gobio gobio</i> (Linnaeus, 1758) hrouzek obecný	Cyprinidae Gobioninae	2	0	0	1	0	0	3
<i>Alburnus alburnus</i> (Linnaeus, 1758) ouklej obecná	Cyprinidae Alburninae	25	0	0	0	0	20	45
<i>Squalius cephalus</i> (Linnaeus, 1758) jelec tloušť	Cyprinidae Leuciscinae	14	21	28	1	27	3	94
<i>Chondrostoma nasus</i> (Linnaeus, 1758) ostroretka stěhovavá	Cyprinidae Leuciscinae	3	0	0	7	0	0	10
<i>Rutilus rutilus</i> (Linnaeus, 1758) plotice obecná	Cyprinidae Leuciscinae	35	7	19	58	0	0	119
<i>Abramis brama</i> (Linnaeus, 1758) cejn velký	Cyprinidae Leuciscinae	2	0	1	6	0	0	9
<i>Blicca bjoerkna</i> (Linnaeus, 1758) cejnek malý	Cyprinidae Leuciscinae	11	0	0	0	0	0	11
<i>Vimba vimba</i> (Linnaeus, 1758) podoustev říční	Cyprinidae Leuciscinae	15	0	1	0	0	0	16
<i>Leuciscus leuciscus</i> (Linnaeus, 1758) jelec proudník	Cyprinidae Leuciscinae	13	0	0	4	0	0	17
<i>Leuciscus idus</i> (Linnaeus, 1758) jelec jesen	Cyprinidae Leuciscinae	0	0	0	12	0	0	12
<i>Aspius aspius</i> (Linnaeus, 1758) bolen dravý	Cyprinidae Leuciscinae	0	0	0	10	0	0	10

Ačkoli odchyty na většině lokalit probíhaly pouze jednou, v Pikovicích na Sázavě se vzorkování konalo celkem pětkrát: v roce 2016 v dubnu, květnu, červnu a srpnu a v roce 2017 v květnu. V Tabulce 6 lze pozorovat postupný nárůst počtu druhů v sezóně.

Tabulka 6: Druhy odchycené na lokalitě v Pikovicích na Sázavě za období dubna až srpna 2016 a v květnu 2017. Na začátku sezóny v roce 2016 lze pozorovat menší druhovou diverzitu mezi odchycenými jedinci, počet druhů stoupá až počátkem léta.

Lokalita: PIKOVICE (Sázava)	datum výlovu					celkem
	28.4.2016	18.5.2016	14.6.2016	26.8.2016	24.5.2017	
<i>Barbatula barbatula</i>	-	1	-	-	-	1
<i>Rhodeus amarus</i>	-	-	22	-	-	22
<i>Gobio gobio</i>	-	-	2	-	-	2
<i>Alburnus alburnus</i>	-	-	25	-	-	25
<i>Squalius cephalus</i>	-	-	8	6	-	14
<i>Chondrostoma nasus</i>	-	3	-	-	-	3
<i>Rutilus rutilus</i>	-	3	1	-	31	35
<i>Abramis brama</i>	-	-	2	-	-	2
<i>Blicca bjoerkna</i>	-	-	11	-	-	11
<i>Vimba vimba</i>	-	-	15	-	-	15
<i>Leuciscus leuciscus</i>	11	2	-	-	-	13

4.2 DNA informace opsínových genů

Čípkové opsiny tvoří čtyři skupiny podle oblasti citlivosti ve světelném spektru a jejich geny mají v případě cichlid různý počet exonů: geny pro SWS1, SWS2 a RH2 opsiny mají pět exonů, gen pro LWS opsin tvoří exonů šest. Na rozdíl od čípkových opsínů, tyčinkový opsin má pouze jeden exon. Délka intronů mezi jednotlivými exony u cichlid je díky různým duplikacím a delecím variabilní.

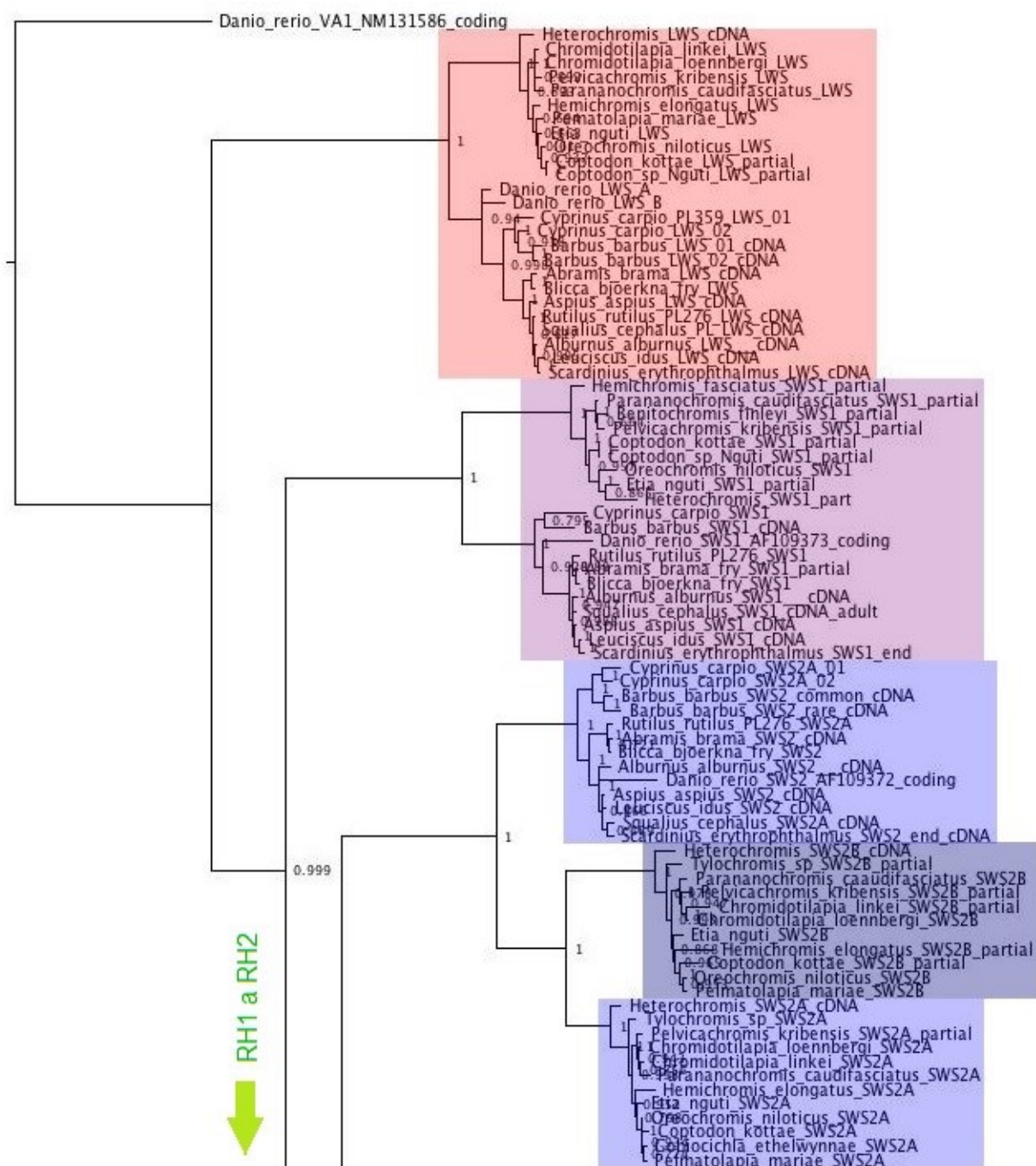
Fylogenetický strom genů (viz Obr. 9) sestavený z dat získaných sekvenováním genů v DNA a sekvenováním RNA v transkriptomech ilustruje, že na bázi fylogeneze opsínů jsou LWS opsiny. Fylogeneticky mladšími skupinami jsou ultrafialové SWS1 opsiny a SWS2 opsiny, přičemž SWS2 jsou sesterskou skupinou k čípkovým RH2 a tyčinkovým RH1 opsínům. Opsiny SWS2A a SWS2B u cichlid tvoří dvě samostatné skupiny. Stejně tomu je i v případě RH2B a RH2A u cichlid, avšak RH2Aalfa a RH2Abeta již tak jasně odděleny nejsou.

Kaprovitě ryby mají na rozdíl od cichlid dva geny pro tyčinkový opsin (rodopsin), kapr obecný (*Cyprinus carpio*) dokonce tři a parma obecná (*Barbus barbus*) čtyři. Pro SWS1 opsin je situace stejná jako u cichlid, kaprovité ryby mají jen jeden. Většina druhů zkoumaných v této práci má jednu kopii SWS2 opsínu, avšak již zmiňovaný kapr a parma mají každá kopie dvě. Co se týče zelených RH2 opsínů, jejich počet je mezi zkoumanými druhy variabilní, ale převládají mezi nimi tři kopie. Parma, jelec proudník (*Leuciscus leuciscus*) a jelec jesen (*Leuciscus idus*) mají pouze dvě kopie RH2 opsínu, zatímco jelec tloušť (*Squalius cephalus*) má dokonce pět kopií RH2 genu.

Situace u dánia pruhovaného (*Danio rerio*) je obdobná – má dvě kopie tyčinkového RH1, jeden SWS1 opsin a jeden SWS2 opsin. Rozdílný je počet kopií zeleného RH2 opsinu, ty má dánío čtyři.

Dánío, kapr a parma mají jako jediné kaprovité ryby v této studii po dvou kopiích červeného LWS opsinu.

Obrázek 9: Fylogenetický strom genů cichlid a kaprovitých ryb. Červeně vyznačeny opsiny LWS, fialově SWS1, modře SWS2 a zeleně RH2 opsiny. Pro lepší čitelnost byl fylogenetický strom rozdělen na dvě poloviny.



4.3 Záměny aminokyselin na pozicích v proteinu a potenciální vliv na funkci zraku

Úspěšně bylo osekvenováno celkem 165 genů z pěti skupin zrakových opsinů a jejich proteinové sekvence byly v rámci každé skupiny porovnány.

Kaprovité ryby mají ve většině případů v proteinech více odlišných pozic než africké cichlidy. Pro RH1 opsiny je 132 pozic variability, pro SWS1 opsin 90, pro SWS2 opsin 38, pro RH2 opsiny 107 pozic a pro LWS opsin celkem 64 pozic.

Kromě pozic, které byly určeny jako klíčové (v následujících tabulkách vyznačeny červeně; Yokoyama, 2008), mají potenciálně vliv na funkci také záměny aminokyselin na dalších pozicích natočených v molekule směrem k chromoforu. Čísla těchto pozic jsou vyznačena černě. Modře jsou vyznačeny všechny pozice, které se nachází na transmembránových helixech proteinu (Palczewski et al., 2000).

4.3.1 Záměny aminokyselin v opsinových proteinech u cichlid

U cichlid bylo pro RH1 opsin porovnáno 15 sekvencí opsinových proteinů získaných převážně ze Sangerova sekvenování DNA jejich genů. Tyto sekvence jako jediné u této zkoumané skupiny pocházejí od všech druhů říčních cichlid použitých pro tuto studii. Pro RH1 opsin bylo nalezeno celkem 74 variabilních pozic se záměnami aminokyselin (viz Tabulka 7). Žlutě je vyznačena polymorfní pozice 163, u níž jsou známy mutace měnící absorpční schopnost rodopsinu (Carleton et al., 2005). Pro SWS1 opsin bylo porovnáno šest sekvencí, které jsou variabilní ve 47 pozicích (viz Tabulka 8). Sekvence SWS2 opsinů byla porovnána u 20 proteinů od 11 druhů a variabilních míst bylo nejvíce – 101 (viz tabulky 9a, 9b a 9c). Sekvence RH2 opsinů pocházelo od 11 druhů a celkem 23 sekvencí se lišilo v 90 pozicích (viz tabulky 10a, 10b a 10c). LWS opsin se u osmi sekvencí lišil pouze na 31 pozicích (viz Tabulka 11).

V RH1 opsinu obratlovců bylo v minulosti určeno osm klíčových pozic, avšak až na pozici 83 se v žádné z dalších tyčinkové opsiny našich zkoumaných druhů neliší. Jediný *Heterochromis multidens* má místo kyseliny asparagové na této pozici asparagin (viz Tabulka 6). Rodopsin afrických cichlid je relativně neměnný.

Pro SWS1 opsin bylo určeno čtrnáct klíčových pozic a sekvence zkoumaných druhů se liší na dvou z nich, 114 a 118 (viz Tabulka 8).

Ze dvanácti klíčových pozic pro SWS2 opsin se jeho sekvence liší na pěti pozicích: 46, 94, 109, 116 a 269 (viz tabulky 9a, 9b a 9c). Proteinové sekvence modrých opsinů SWS2A a SWS2B se mezi sebou liší v 68 pozicích (v rámci jednotlivých druhů se však sekvence těchto opsinů mohou lišit i na větším či naopak menším počtu pozic).

Tabulka 7: Záměny aminokyselin v tyčinkovém opsinu RH1 u cichlid.

	14	17	19	29	33	49	50	64	75	83	96	102	104	122	123	124	130	133	159	162	163	166	169	172	173	191	194	195	210	213	214	216	217	218	224	226	227	
Heterochromis multidens RH1	V	T	V	Y	N	L	A	E	V	N	Y	Y	V	E	M	S	A	I	F	I	M	S	G	V	I	Y	R	A	V	L	I	L	T	V	G	L	L	
Tylochromis sp. RH1	V	T	I	H	S	I	A	Q	I	D	Y	Y	V	E	I	G	V	I	V	I	G	S	A	L	L	Y	R	A	C	S	I	L	I	I	G	L	L	
Benitochromis conjunctus RH1	V	S	I	H	N	L	A	E	I	D	Y	Y	I	E	I	G	V	I	F	A	A	S	A	L	L	Y	R	A	C	L	I	L	T	V	G	L	L	
Benitochromis finleyi RH1 partial	V	S	I	H	N	L	A	E	I	D	Y	Y	I	E	I	G	V	I	F	A	A	S	A	L	L	H	R	A	C	L	T	L	T	D	R	P	P	
Chromidotilapia linkiei RH1	V	S	I	H	S	L	A	E	I	D	Y	Y	V	E	I	G	V	V	F	A	A	S	A	L	L	Y	R	A	C	L	I	L	T	V	G	L	L	
Chromidotilapia loennbergi RH1	V	T	I	H	S	L	A	E	I	D	Y	Y	V	E	I	G	V	V	F	A	A	S	A	L	L	Y	R	A	C	L	I	L	T	V	G	L	L	
Parananochromis caudifasciatus RH1	V	T	I	H	S	L	A	E	I	D	Y	Y	V	E	I	G	V	I	F	V	A	A	S	A	L	L	Y	R	A	C	L	I	M	T	V	G	L	L
Pelvicachromis kribensis RH1	V	S	I	H	S	L	A	E	I	D	Y	Y	V	E	I	G	V	I	F	A	A	S	A	L	L	Y	R	A	C	L	I	L	T	V	G	L	L	
Hemichromis elongatus RH1	V	T	I	H	S	L	A	E	I	D	Y	Y	V	E	I	G	V	I	F	A	A	S	A	L	L	Y	R	A	C	L	I	L	I	I	G	L	L	
Hemichromis fasciatus RH1	V	T	I	H	S	L	A	E	I	D	Y	Y	V	E	I	G	V	I	F	A	A	S	A	L	L	Y	R	A	C	L	I	L	I	I	G	L	L	
Etia nguti RH1	V	T	I	H	S	L	A	E	I	D	Y	Y	V	E	I	G	V	I	F	L	A	S	A	L	V	Y	R	A	C	L	I	L	T	I	G	L	L	
Oreochromis niloticus RH1	V	T	I	H	S	L	A	E	I	D	Y	Y	V	E	I	G	V	V	F	L	A	S	G	L	V	Y	R	A	C	L	I	L	T	V	G	L	L	
Coptodon kottae RH1	V	T	I	H	S	I	V	E	I	D	Y	Y	V	E	I	G	V	V	F	L	A	A	G	L	V	Y	R	A	C	L	I	L	T	V	G	L	L	
Coptodon sp. Nguti RH1	V	T	I	H	S	I	V	E	I	D	Y	Y	V	E	I	G	V	V	F	L	A	A	G	L	V	Y	R	A	C	L	I	L	T	V	G	L	L	
Gobiocichla ethelwynnae RH1	V	T	V	H	S	L	A	E	I	D	Y	Y	V	E	I	G	V	I	F	V	A	A	A	L	V	Y	R	A	C	L	I	L	A	V	G	L	L	
Pelmatolapia mariae RH1	I	T	I	H	S	L	A	E	I	D	Y	Y	V	E	I	G	V	I	F	V	A	S	G	L	L	Y	R	A	C	L	I	L	T	V	G	L	L	
Heterochromis multidens RH1	231	237	238	244	245	246	248	250	252	253	253	256	260	261	262	263	267	270	271	272	274	275	278	279	282	285	286	287	288	292	297	298	304	308	331	332	344	
Heterochromis multidens RH1	K	Q	Q	Q	R	A	R	V	R	M	V	V	A	F	L	I	P	G	V	A	W	I	H	Q	E	P	I	L	M	A	S	S	L	F	E	E	S	
Tylochromis sp. RH1	K	Q	Q	Q	R	A	R	V	R	M	V	I	A	F	L	I	P	G	V	A	Y	I	H	Q	E	P	V	F	M	A	S	A	L	C	E	E	S	
Benitochromis conjunctus RH1	K	Q	Q	Q	R	A	R	V	R	M	V	I	A	F	L	I	P	G	V	A	Y	I	H	Q	D	P	V	F	M	A	A	A	L	C	E	E	S	
Benitochromis finleyi RH1 partial	Q	P	P	P	T	G	K	S	P	P	A	I	G	F	P	I	A	R	L	G	D	L	P	P	D	T	V	L	L	T	-	-	-	C	H	Q	T	
Chromidotilapia linkiei RH1	K	Q	Q	Q	R	A	R	V	R	M	V	I	A	F	L	I	P	G	V	A	Y	I	H	Q	D	P	V	F	M	A	A	A	L	C	E	E	S	
Chromidotilapia loennbergi RH1	K	Q	Q	Q	R	A	R	V	R	M	V	I	A	F	L	I	P	G	V	A	Y	I	H	Q	D	P	V	F	M	A	A	A	L	C	E	E	S	
Parananochromis caudifasciatus RH1	K	Q	Q	Q	R	A	R	V	R	M	V	I	A	F	L	I	P	G	V	A	Y	I	H	Q	D	P	V	F	M	A	A	A	L	C	E	E	S	
Pelvicachromis kribensis RH1	K	Q	Q	Q	R	A	R	V	R	M	V	I	A	F	L	I	P	G	V	A	Y	I	H	Q	D	P	V	F	M	A	A	A	L	C	E	E	S	
Hemichromis elongatus RH1	K	Q	Q	Q	R	A	R	V	R	M	V	I	A	F	L	I	P	G	V	A	Y	I	H	Q	E	P	V	F	M	A	A	A	L	C	E	E	S	
Hemichromis fasciatus RH1	K	Q	Q	Q	R	A	R	V	R	M	V	I	A	F	L	I	P	G	V	A	Y	I	H	Q	E	P	V	F	M	A	A	A	L	C	E	E	S	
Etia nguti RH1	K	Q	Q	Q	R	A	R	V	R	M	V	I	A	F	L	I	P	G	V	A	Y	I	H	Q	E	P	V	F	M	A	A	A	L	C	E	E	S	
Oreochromis niloticus RH1	K	Q	Q	Q	R	A	R	V	R	M	V	I	A	F	L	I	P	G	V	A	Y	I	H	Q	E	P	V	F	M	A	A	A	L	C	E	E	S	
Oreochromis niloticus RH1	K	Q	Q	Q	R	A	R	V	R	M	V	I	S	F	L	I	P	G	V	A	Y	I	H	Q	E	P	V	F	M	A	S	S	L	C	E	E	S	
Coptodon kottae RH1	K	Q	Q	Q	R	A	R	V	R	M	V	I	S	F	L	V	P	G	V	A	Y	I	H	Q	E	P	V	F	M	A	S	S	M	C	E	E	S	
Coptodon sp. Nguti RH1	K	Q	Q	Q	R	A	R	V	R	M	V	I	S	F	L	V	P	G	V	A	Y	I	H	Q	E	P	V	F	M	A	S	S	M	C	E	E	S	
Gobiocichla ethelwynnae RH1	K	Q	Q	Q	R	A	R	V	R	M	V	I	A	F	L	I	P	G	V	A	Y	I	H	Q	E	P	V	F	M	A	A	G	A	L	C	E	E	S
Pelmatolapia mariae RH1	K	Q	Q	Q	R	A	R	V	R	M	V	I	A	F	L	I	P	G	V	A	Y	I	H	Q	E	P	V	F	M	A	A	G	A	L	C	E	E	S

Tabulka 8: Záměny aminokyselin v čípkovém opsinu SWS1 u cichlid.

	34	45	46	49	50	52	57	67	86	90	91	93	97	107	109	113	114	116	118	119	126	147	149	150	164	165	166	167	168	169	179	184	195	204	205	208	209	214	254	260	261	270	271	279	280	336	342	
Benitochromis finleyi SWS1 partial	V	F	F	F	F	T	I	Q	F	S	V	Q	A	H	L	E	S	V	A	I	S	K	S	T	G	R	L	C	L	?	?	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Pelvicachromis kribensis SWS1 partial	V	C	F	F	S	T	I	Q	F	S	V	Q	A	H	L	E	A	V	A	I	S	R	S	A	S	W	G	?	A	A	A	K	R	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Hemichromis fasciatus SWS1 partial	T	G	F	F	A	T	I	K	F	S	V	Q	A	Y	L	E	A	V	A	V	V	G	K	G	S	G	V	A	C	A	S	L	D	S	T	H	I	V	I	I	S	F	V	T	P	D	A	M
Etia nguti SWS1 partial	T	G	F	F	A	T	I	K	F	S	V	Q	A	Y	L	E	A	V	A	V	A	K	G	A	G	V	G	C	A	C	I	G	N	I	Y	L	I	I	?	?	?	L	A	T	N	V	V	
Oreochromis niloticus SWS1	T	G	F	F	A	T	V	K	F	S	V	Q	A	H	L	E	A	V	A	I	A	K	G	S	G	V	G	C	A	C	I	G	N	I	Y	L	I	F	I	S	F	L	A	T	D	V	V	
Coptodon kottae SWS1 partial	A	G	F	F	A	T	V	K	F	S	V	Q	A	H	L	E	S	V	S	V	A	K	G	S	G	I	G	C	A	C	I	G	S	T	H	M	V	I	?	?	L	A	T	D	V	V		
Coptodon sp. Nguti SWS1 partial	A	G	F	F	A	T	V	K	F	S	V	Q	A	H	L	E	S	V	S	V	A	K	G	S	G	I	G	C	A	C	I	G	S	T	H	M	V	I	?	P	Y	-	-	-	-	-		

Tabulka 9a: Záměny aminokyselin v čípkových opsidech SWS2A a SWS2B u cichlid.

	5	6	13	14	21	24	33	35	36	39	41	42	44	45	46	47	48	49	50	53	54	63	77	80	81	85	88	91	94	95	97	99	101	103
Heterochromis multidens SWS2A	E	L	I	S	T	F	D	V	T	A	A	V	M	L	F	I	F	V	F	F	I	I	L	A	A	L	C	S	A	F	S	T	R	F
Tylochromis sp. SWS2A	E	L	V	S	T	F	D	A	T	A	A	V	M	L	F	I	F	V	V	F	I	I	L	A	T	L	C	S	A	C	S	S	R	F
Chromidotilapia linkei SWS2A	E	L	I	S	T	F	D	A	T	A	A	A	M	L	F	V	F	I	F	F	I	I	L	A	A	V	C	S	A	C	S	S	R	F
Chromidotilapia loenbergi SWS2A	E	L	I	S	T	F	D	A	T	A	A	V	M	L	F	V	F	I	F	F	I	I	L	A	A	V	C	S	A	C	S	S	R	F
Parananochromis caudifasciatus SWS2A	E	L	I	S	T	F	D	A	T	A	A	A	M	L	F	V	F	V	F	F	I	I	L	A	A	V	C	S	A	C	S	S	R	F
Pelvicachromis kribensis SWS2A	E	L	I	S	S	F	D	A	T	A	A	V	M	L	F	I	F	I	F	F	I	I	?	A	A	V	C	S	A	C	S	S	R	F
Hemichromis elongatus SWS2A	E	L	V	S	T	F	N	A	T	G	A	V	M	L	I	I	F	I	F	F	I	I	L	A	A	L	C	S	A	C	S	S	R	F
Etia nguti SWS2A	E	L	I	T	T	F	D	A	T	A	A	V	M	L	F	I	F	V	F	F	I	I	L	S	A	L	C	S	A	C	S	S	R	F
Oreochromis niloticus SWS2A	E	L	V	S	T	F	D	A	T	A	A	V	M	L	F	I	F	I	F	F	I	I	L	S	A	L	C	S	A	C	S	S	R	F
Coptodon kottae SWS2A	E	L	V	S	T	F	D	A	T	A	A	V	M	L	L	I	F	I	F	F	I	I	L	A	A	L	C	S	A	C	S	A	R	F
Gobiocihia ethelwynnae SWS2A	E	L	V	S	T	F	D	A	T	A	A	V	M	L	F	I	F	I	F	F	I	I	L	A	A	L	C	S	A	C	S	S	R	F
Pelmatolapia mariae SWS2A	E	L	V	S	T	F	D	A	T	A	A	V	M	L	F	I	F	I	F	I	I	L	A	A	L	C	S	A	C	S	S	R	F	
Heterochromis multidens SWS2B	E	F	I	P	T	Y	T	L	V	S	S	A	M	F	V	L	W	V	A	A	I	V	V	A	V	L	S	S	C	F	C	A	R	M
Tylochromis sp. SWS2B partial	L	L	K	P	?	Y	S	L	I	S	S	V	M	F	F	L	W	V	A	M	I	V	V	A	V	L	S	S	?	?	?	?	?	?
Chromidotilapia linkei SWS2B partial	E	F	I	P	T	Y	S	L	I	S	S	A	M	F	F	L	W	V	A	V	V	V	V	A	V	L	S	S	?	?	?	?	?	
Chromidotilapia loenbergi SWS2B	E	F	I	P	T	Y	S	L	I	S	S	A	M	F	F	L	W	V	A	V	I	V	V	A	V	L	S	S	C	F	C	A	K	M
Parananochromis caudifasciatus SWS2B	E	F	I	P	T	Y	S	L	I	S	S	A	M	F	F	L	W	V	A	V	I	V	V	A	V	L	S	S	C	F	C	A	K	M
Hemichromis elongatus SWS2B partial	E	F	I	P	T	Y	S	L	I	S	S	A	M	F	F	L	W	V	A	V	I	V	V	A	V	L	S	S	C	F	C	A	K	M
Etia nguti SWS2B	E	F	I	P	T	Y	S	L	I	S	S	V	M	F	F	L	W	V	A	V	I	V	V	A	V	L	S	S	C	F	C	A	K	M
Oreochromis niloticus SWS2B	E	F	I	P	T	Y	S	L	I	S	S	V	M	F	F	L	W	V	A	V	I	V	V	A	V	L	S	S	C	F	C	A	K	M
Coptodon kottae SWS2B partial	E	F	I	P	T	Y	S	L	V	S	S	A	M	F	F	L	W	V	A	V	I	V	V	A	V	L	S	S	C	F	C	A	K	M
Pelmatolapia mariae SWS2B	E	F	I	P	T	Y	S	L	I	S	S	A	M	F	F	L	W	V	A	V	I	V	V	A	V	L	S	S	C	F	C	A	K	M

Tabulka 9b: Záměny aminokyselin v čípkových opsinech SWS2A a SWS2B u cichlid.

	104	105	107	108	109	116	118	121	122	131	139	150	151	154	158	159	162	163	164	165	166	167	168	169	173	175	183	195	198	202	205	216	217
Heterochromis multidentis SWS2A	I	F	A	L	A	M	T	G	M	V	I	P	D	I	V	F	F	F	A	L	V	A	S	A	F	W	L	N	Y	S	M	L	A
Tylochromis sp. SWS2A	I	F	A	L	A	M	T	G	M	I	I	P	D	I	A	F	F	F	A	L	I	A	S	A	F	W	L	N	Y	S	M	L	T
Chromidotilapia linkei SWS2A	I	F	A	L	A	M	T	G	M	I	I	P	D	I	V	F	F	F	G	L	I	A	S	A	F	W	L	N	Y	S	M	L	T
Chromidotilapia loennbergi SWS2A	I	F	A	L	A	M	T	G	M	I	I	P	D	I	V	F	F	F	A	L	F	A	S	A	F	W	L	N	Y	S	M	L	T
Parananochromis caudifasciatus SWS2A	I	F	A	L	A	M	T	G	M	I	I	P	D	I	A	F	F	F	A	L	V	A	S	A	F	W	L	N	Y	S	M	L	T
Pelvicachromis kribensis SWS2A	I	F	A	L	A	M	T	G	M	I	I	P	D	I	V	F	F	F	A	L	I	A	S	A	F	W	L	N	Y	S	I	L	T
Hemichromis elongatus SWS2A	I	F	A	L	A	M	T	G	M	V	I	P	D	I	V	F	F	F	A	L	A	S	A	F	W	L	N	Y	S	M	F	T	
Etia nguti SWS2A	I	F	A	L	A	M	T	G	M	I	I	P	D	I	V	F	F	F	A	L	F	A	S	A	F	W	L	N	Y	S	M	L	T
Oreochromis niloticus SWS2A	I	F	A	L	A	M	T	G	M	I	I	P	D	I	A	F	F	F	A	L	F	A	S	A	F	W	L	N	Y	S	M	L	T
Coptodon kottae SWS2A	I	F	A	L	A	M	T	G	M	V	I	P	D	I	A	F	F	F	A	L	F	A	S	A	F	W	L	N	Y	S	M	L	T
Gobiocichla ethelwynnae SWS2A	I	F	A	L	A	M	T	G	M	I	I	P	D	I	V	F	F	F	A	L	F	A	S	A	F	W	L	N	Y	S	M	L	T
Pelmatolapia mariae SWS2A	I	F	A	L	A	M	T	G	M	I	I	P	D	I	A	F	F	F	A	L	F	A	S	A	F	W	L	N	Y	S	M	L	T
Heterochromis multidentis SWS2B	Y	L	T	I	G	T	T	G	M	I	V	S	S	L	G	L	V	C	G	L	S	A	A	I	V	W	M	G	F	T	M	F	S
Tylochromis sp. SWS2B partial	I	L	P	I	G	T	T	G	M	V	V	S	S	L	G	L	V	C	G	L	S	A	A	V	V	W	M	G	F	T	M	F	S
Chromidotilapia linkei SWS2B partial	?	?	?	?	?	T	?	M	?	?	?	S	S	L	G	L	V	C	A	M	S	A	A	L	V	W	?	?	?	T	M	F	S
Chromidotilapia loennbergi SWS2B	F	L	P	I	G	T	T	G	M	V	V	S	S	L	G	L	V	C	A	M	S	A	A	L	V	W	M	D	F	T	M	F	S
Parananochromis caudifasciatus SWS2B	F	V	P	I	G	T	T	G	M	V	V	S	S	L	G	L	V	C	A	M	S	A	A	L	V	W	M	G	F	T	M	F	S
Hemichromis elongatus SWS2B partial	F	L	P	I	G	T	T	K	M	x	V	S	S	I	G	L	V	C	G	M	S	A	A	L	I	L	M	G	F	T	M	F	S
Etia nguti SWS2B	F	L	P	I	G	T	T	G	M	V	V	S	S	L	G	M	V	C	G	M	S	A	A	L	V	W	M	G	F	T	M	F	S
Oreochromis niloticus SWS2B	F	L	P	I	G	T	T	G	M	V	V	S	S	L	G	M	V	C	G	M	S	A	A	L	V	W	M	G	F	T	M	F	S
Coptodon kottae SWS2B partial	F	L	P	T	A	T	T	D	M	V	V	S	S	L	G	L	V	C	G	L	S	A	A	L	V	W	M	G	F	T	M	F	S
Pelmatolapia mariae SWS2B	F	F	P	T	A	V	T	G	M	V	V	S	S	L	G	L	V	C	G	L	S	A	A	L	V	W	M	G	F	T	M	F	S

Tabulka 9c: Záměny aminokyselin v čípkových opsinech SWS2A a SWS2B u cichlid.

	218	220	228	229	233	234	248	252	259	261	265	266	269	273	282	290	292	299	300	304	307	308	315	317	318	319	321	324	330	331	335	336	339	348	
Heterochromis multidens SWS2A	T	I	I	T	A	A	R	R	M	F	W	L	A	L	P	I	S	A	V	I	V	L	T	M	L	A	M	G	E	E	T	T	V	A	
Tylochromis sp. SWS2A	T	I	I	T	M	A	K	R	L	F	W	L	A	L	P	I	S	A	V	I	V	V	T	M	L	A	M	G	E	E	T	T	V	A	
Chromidotilapia linkiei SWS2A	T	I	I	T	M	A	R	R	I	F	W	L	A	L	P	V	S	A	V	V	V	V	T	M	L	A	M	G	E	E	T	T	V	A	
Chromidotilapia loennbergi SWS2A	T	I	I	T	M	A	K	R	I	F	W	L	A	L	P	V	S	A	V	V	V	V	T	M	L	A	M	G	E	E	T	T	V	A	
Paranochromis caudifasciatus SWS2A	T	L	I	T	M	A	K	R	V	F	W	L	A	L	P	V	S	A	V	V	V	V	T	M	L	A	M	G	E	E	T	T	V	A	
Pelvicachromis kribensis SWS2A	T	I	I	T	M	A	R	R	I	F	W	L	A	L	P	V	S	A	V	V	V	V	T	M	L	A	M	G	E	E	T	T	V	A	
Hemichromis elongatus SWS2A	T	V	I	T	M	A	K	R	L	F	W	L	A	L	S	I	S	A	V	V	V	V	T	M	L	A	M	G	E	E	T	T	V	A	
Etia nguti SWS2A	T	I	I	T	M	A	K	R	L	F	W	L	A	L	S	I	S	A	V	V	V	V	T	M	L	A	M	G	E	E	T	T	V	A	
Oreochromis niloticus SWS2A	T	I	I	T	M	A	K	R	L	F	W	L	A	L	S	I	S	A	V	V	V	V	T	M	L	A	M	G	E	E	T	T	V	A	
Coptodon kottae SWS2A	T	I	I	T	M	A	K	R	L	F	W	L	A	L	S	I	S	A	V	I	V	V	T	M	L	A	M	G	E	E	T	T	V	A	
Gobiocichla ethelwynnae SWS2A	T	I	I	T	M	A	K	R	L	F	W	L	A	L	S	I	S	A	V	I	V	V	T	M	L	A	M	G	E	E	T	T	V	A	
Pelmatolapia mariae SWS2A	T	I	I	T	M	A	K	R	L	F	W	L	A	L	S	I	S	A	V	V	V	V	T	M	L	A	M	G	E	E	T	T	V	A	
Heterochromis multidens SWS2B	T	V	F	M	A	V	K	R	L	F	W	M	A	F	P	I	S	T	V	V	I	L	S	L	R	K	L	S	D	E	T	S	T	A	
Tylochromis sp. SWS2B partial	T	V	F	M	S	V	K	R	L	F	W	V	A	L	T	I	S	T	V	V	I	L	S	I	R	K	L	S	D	D	S	S	T	T	
Chromidotilapia linkiei SWS2B partial	A	V	F	M	S	I	?	?	?	F	W	M	T	L	P	I	S	T	L	V	I	L	L	I	R	K	L	-	-	-	-	-	-	-	
Chromidotilapia loennbergi SWS2B	A	V	F	M	S	A	K	K	L	F	W	M	T	L	P	I	S	T	V	V	I	L	S	I	R	K	L	S	D	D	S	S	T	A	
Paranochromis caudifasciatus SWS2B	T	V	F	M	S	V	R	K	L	F	W	M	T	L	P	I	S	T	V	V	I	L	S	I	R	K	L	S	D	D	S	S	T	A	
Hemichromis elongatus SWS2B partial	?	?	?	?	?	?	K	R	L	F	W	M	A	V	S	I	S	T	V	V	I	L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Etia nguti SWS2B	T	V	F	M	S	V	K	R	L	F	W	M	A	V	P	I	S	T	V	V	I	L	S	I	R	K	L	S	D	D	S	S	T	T	
Oreochromis niloticus SWS2B	T	V	F	M	S	V	K	R	L	F	W	M	A	V	P	I	S	T	V	V	I	L	S	I	R	K	L	S	D	D	S	S	T	A	
Coptodon kottae SWS2B partial	T	V	F	M	S	x	K	R	L	F	W	M	A	V	P	I	S	T	V	V	I	L	S	I	R	K	L	S	D	D	S	S	T	A	
Pelmatolapia mariae SWS2B	T	V	F	M	S	V	K	R	L	F	W	M	A	V	P	I	S	T	V	V	I	L	S	I	R	K	L	S	D	D	S	S	T	A	

Tabulka 10a: Záměny aminokyselin v čípkových opsinech RH2Aalfa, RH2Abeta a RH2B u cichlid.

	1	13	14	16	19	22	23	27	31	32	34	35	36	37	38	39	44	48	49	52	56	60	74	83	86	87	88	93	95	96	97	98	99	100	104	105	107	108	109	119	122	124	149	150	151	
Heterochromis multidentis RH2Aalpha	P	M	S	R	I	S	P	P	M	V	P	I	T	Y	K	V	M	I	C	T	G	F	Y	G	M	C	L	I	I	T	S	A	F	N	I	L	P	T	F	L	E	A	T	G	A	
Tylochromis sp. RH2Aalpha	P	M	S	R	I	S	P	P	M	V	P	M	I	Y	K	L	M	I	C	T	G	F	Y	G	M	C	C	I	I	T	S	A	L	N	I	L	P	T	F	L	E	A	T	G	A	
Chromidotilapia linekei RH2Aalpha	P	M	S	R	I	S	P	T	M	V	P	M	I	Y	K	L	M	I	C	T	G	F	Y	G	M	C	C	I	I	T	S	A	V	N	I	L	P	T	F	L	E	A	S	G	T	
Chromidotilapia loenbergi RH2Aalpha	P	M	S	R	I	S	P	T	M	V	P	M	I	Y	K	L	M	I	C	T	G	F	Y	G	M	C	C	I	I	T	S	A	V	N	I	L	P	T	F	L	E	A	S	G	T	
Parananochromis caudifasciatus RH2Aalpha	P	M	S	R	I	S	P	T	M	V	P	I	I	Y	K	V	M	I	C	T	G	F	Y	G	M	C	C	I	L	T	S	A	L	N	I	L	P	T	F	L	E	A	S	G	A	
Pelvicachromis kribensis RH2Aalpha	P	M	S	R	I	S	P	T	M	V	P	I	T	Y	K	V	M	I	C	T	G	F	Y	G	M	C	x	I	I	T	S	A	x	N	I	L	P	T	F	L	E	A	S	G	A	
Hemichromis elongatus RH2Aalpha	P	M	S	R	I	S	P	P	M	V	P	I	I	Y	K	V	M	I	C	T	G	F	Y	G	M	C	M	I	I	T	S	A	V	N	I	L	P	T	F	L	E	A	S	G	A	
Etia nguti RH2Aalpha	P	M	S	R	I	S	P	P	M	V	P	I	I	Y	K	I	M	I	C	T	G	F	Y	G	M	C	C	I	I	T	S	A	V	N	I	L	P	T	F	L	E	A	T	G	A	
Oreochromis niloticus RH2Aalpha	P	M	S	R	I	N	P	S	L	A	P	I	F	F	K	L	M	I	C	T	G	F	Y	G	M	C	C	I	I	T	S	A	I	N	V	L	T	T	F	L	E	A	T	G	A	
Pelmatolapia mariae RH2Aalpha	P	M	S	R	I	S	P	T	M	V	P	I	I	Y	K	L	M	I	C	T	G	F	Y	G	M	C	C	I	I	T	S	A	V	N	I	L	P	T	F	L	E	A	S	G	A	
Heterochromis multidentis RH2Abeta	P	M	S	R	I	S	P	P	L	A	P	I	F	F	K	L	M	I	C	T	S	F	Y	G	M	C	L	I	I	T	S	A	x	N	I	L	P	T	F	L	E	A	T	G	A	
Tylochromis sp. RH2Abeta	P	M	S	R	I	S	P	P	L	A	P	I	F	F	K	L	M	I	C	T	S	F	Y	G	M	C	C	I	I	T	S	A	F	N	I	L	S	T	F	L	E	A	T	G	A	
Chromidotilapia loenbergi RH2Abeta	I	M	S	R	I	S	P	T	L	A	S	I	F	F	K	L	M	I	C	T	G	F	Y	G	M	C	C	I	I	T	S	A	V	N	I	L	P	T	F	L	E	A	S	G	T	
Parananochromis caudifasciatus RH2Abeta	P	M	S	R	I	S	P	T	L	A	P	I	F	F	K	L	M	I	C	T	G	F	Y	G	M	C	C	I	I	T	S	A	V	N	I	L	P	T	F	L	E	A	S	G	A	
Pelvicachromis kribensis RH2Abeta partial	P	?	?	?	?	?	S	T	L	A	P	I	F	F	K	L	M	I	C	T	G	F	?	G	M	?	?	?	?	?	?	S	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?
Hemichromis elongatus RH2Abeta partial	P	M	S	R	I	S	P	S	L	A	P	I	F	F	K	L	M	I	C	T	G	F	Y	G	M	C	C	I	I	T	S	A	V	N	I	L	P	T	F	L	E	A	S	G	A	
Etia nguti RH2Abeta	P	M	S	R	I	N	P	S	L	A	P	I	F	F	K	L	M	I	C	T	G	F	Y	G	M	C	C	I	I	T	S	A	V	N	I	L	P	T	F	L	E	A	T	G	A	
Oreochromis niloticus RH2Abeta	P	M	S	R	I	N	P	S	L	A	P	I	F	F	K	L	M	I	C	T	G	F	Y	G	M	C	C	I	I	T	S	A	I	N	V	L	T	T	F	L	E	A	T	G	A	
Coptodon kottae RH2Abeta	P	M	S	R	I	N	P	T	L	A	P	I	F	F	K	L	M	I	C	T	G	F	Y	G	M	C	C	I	I	T	S	A	V	N	V	L	S	T	F	L	E	A	T	G	A	
Coptodon sp. Nguti RH2Abeta	P	M	S	R	I	N	P	S	L	A	P	I	F	F	K	L	M	I	C	T	G	F	Y	G	M	C	C	I	I	T	S	A	V	N	V	L	S	T	F	L	E	A	T	G	A	
Pelmatolapia mariae RH2Abeta partial	P	M	S	R	I	S	P	S	L	A	P	I	F	F	K	L	M	I	C	T	G	F	Y	G	M	C	C	I	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?
Chromidotilapia loenbergi RH2B partial	P	L	N	K	L	S	P	P	L	A	P	W	F	F	R	M	I	I	F	F	L	F	G	M	V	M	V	I	Y	S	S	L	N	A	M	P	L	S	V	E	S	T	A	T		
Oreochromis niloticus RH2B	P	L	N	K	L	N	P	P	L	A	P	W	F	F	K	L	M	V	I	F	F	L	F	G	M	V	M	V	I	Y	S	C	L	N	S	L	P	L	S	V	E	S	T	A	T	
Coptodon sp. Nguti RH2B partial	P	L	N	K	L	S	P	P	L	A	P	W	F	F	K	L	M	V	I	F	F	L	F	G	M	V	M	V	I	Y	S	S	L	Y	A	L	P	L	S	I	E	S	T	A	T	

Tabulka 10b: Záměny aminokyselin v čípkových opsinech RH2Aalfa, RH2Abeta a RH2B u cichlid.

	155	157	158	162	164	166	173	179	183	185	198	205	207	209	210	213	214	218	225	228	235	248	255	259	263	270	273	277	282	284	286	287	288	290	292	295	301	304	307	314	321	333	335	337	345		
Heterochromis multidens RH2Aalpha	A	V	L	I	A	A	A	I	M	C	F	I	M	I	V	F	V	I	S	M	A	K	V	L	-	S	G	L	A	S	L	T	A	L	A	A	Y	V	V	R	I	T	V	T	V		
Tylochromis sp. RH2Aalpha	A	V	F	V	A	A	V	I	M	C	F	I	M	V	V	F	V	S	M	A	R	V	L	V	S	G	L	S	S	L	T	A	L	A	A	Y	I	V	R	I	T	S	T	V			
Chromidotilapia linkei RH2Aalpha	A	V	F	V	A	A	A	I	M	C	F	I	M	V	V	F	V	I	S	L	A	K	V	L	V	S	G	L	S	L	T	A	L	A	A	Y	V	V	R	I	T	S	T	V			
Chromidotilapia loenbergi RH2Aalpha	A	V	F	V	A	A	A	I	M	C	F	I	M	V	V	F	V	I	S	L	A	K	V	L	V	S	G	L	S	L	T	A	L	A	A	Y	V	V	R	I	T	S	T	V			
Parananochromis caudifasciatus RH2Aalpha	A	V	F	V	A	A	A	I	M	C	F	I	M	V	V	F	V	I	S	M	A	K	I	L	V	S	G	L	S	L	T	A	L	A	A	Y	I	V	R	I	T	S	A	V			
Pelvicachromis kribensis RH2Aalpha	A	V	F	V	A	A	A	I	M	C	F	I	M	V	V	F	V	I	S	M	A	K	V	L	V	S	G	L	S	L	T	A	L	A	A	Y	V	V	R	I	T	S	A	V			
Hemichromis elongatus RH2Aalpha	A	V	F	V	A	A	x	I	M	C	F	I	M	V	V	F	V	I	S	M	A	K	V	L	V	T	G	L	S	L	T	A	L	A	A	Y	V	V	R	I	T	S	A	V			
Etia nguti RH2Aalpha	A	V	L	I	A	A	V	A	I	M	C	F	I	M	V	V	F	V	I	S	M	A	K	V	L	V	S	G	L	A	S	L	T	A	L	A	A	Y	V	V	R	I	T	S	T	V	
Oreochromis niloticus RH2Aalpha	A	V	L	I	A	A	F	I	M	C	F	I	M	V	V	F	V	I	S	M	A	K	V	M	I	S	G	L	A	S	L	T	A	L	A	A	Y	I	V	R	I	T	S	T	V		
Pelmatolapia mariae RH2Aalpha	A	V	F	V	A	A	F	I	M	C	F	I	M	V	V	F	V	I	S	M	A	K	V	M	V	S	G	L	A	S	L	T	A	L	A	A	Y	V	V	R	I	T	S	T	V		
Heterochromis multidens RH2Abeta	A	V	L	I	A	A	A	I	M	C	F	I	M	I	V	F	V	I	S	M	A	K	V	L	-	S	G	L	S	L	T	A	I	A	Y	V	V	R	I	T	V	T	V				
Tylochromis sp. RH2Abeta	A	V	L	I	A	A	V	L	M	C	F	I	M	V	V	F	V	I	S	M	A	R	V	L	V	S	G	L	S	L	T	A	x	A	A	Y	I	V	R	I	T	S	T	V			
Chromidotilapia loenbergi RH2Abeta	A	V	F	V	A	A	A	I	M	C	F	I	M	V	V	F	V	I	S	L	A	K	V	L	V	S	G	L	S	L	T	A	L	A	A	Y	V	V	R	I	T	S	T	V			
Parananochromis caudifasciatus RH2Abeta	A	V	F	V	A	A	V	I	M	C	F	I	M	V	V	F	V	I	S	M	A	K	I	L	V	S	G	L	S	L	T	A	L	A	A	Y	I	V	R	I	T	S	A	V			
Pelvicachromis kribensis RH2Abeta partial	?	?	?	?	A	?	?	I	M	C	F	I	M	V	V	F	V	I	S	M	A	K	V	L	V	S	G	L	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?
Hemichromis elongatus RH2Abeta partial	A	V	L	I	A	A	V	L	M	C	F	I	M	V	V	F	V	I	S	M	A	K	V	L	V	S	G	L	A	S	L	T	A	I	A	Y	V	V	R	I	A	S	T	V			
Etia nguti RH2Abeta	A	V	L	I	A	A	A	I	M	C	F	M	M	V	V	F	V	I	S	M	A	K	V	L	V	S	G	L	S	L	T	A	I	A	A	Y	V	V	R	I	T	S	T	V			
Oreochromis niloticus RH2Abeta	A	V	L	I	A	A	F	I	M	C	F	I	M	V	V	F	V	I	S	M	A	K	V	M	I	S	G	L	A	S	L	T	A	I	A	Y	I	V	R	I	T	S	T	V			
Coptodon kottae RH2Abeta	A	V	L	I	A	A	F	I	M	C	F	I	M	V	V	F	V	I	S	M	A	K	V	M	I	S	G	L	A	S	L	T	A	I	A	A	Y	I	V	R	I	-	-	-			
Coptodon sp. Nguti RH2Abeta	A	V	L	I	A	A	F	I	M	C	F	I	M	V	V	F	V	I	S	M	A	K	V	M	I	S	G	L	A	S	L	T	A	I	A	A	Y	I	V	R	I	T	S	T	V		
Pelmatolapia mariae RH2Abeta partial	A	V	L	I	A	A	F	I	M	C	F	I	M	V	V	F	V	I	S	M	A	K	V	M	I	S	G	L	A	S	L	T	A	I	A	A	Y	I	V	R	I	T	S	T	V		
Chromidotilapia loenbergi RH2B partial	V	C	A	I	A	A	F	I	I	V	Y	I	M	T	C	C	V	T	N	F	?	?	?	?	?	S	A	F	A	T	A	M	I	A	S	F	I	I	P	I	T	T	A	A			
Oreochromis niloticus RH2B	V	C	A	I	A	S	L	I	I	V	Y	M	M	T	C	C	V	T	N	F	S	K	I	L	F	S	A	F	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?
Coptodon sp. Nguti RH2B partial	V	C	A	I	A	A	F	I	I	V	Y	M	M	T	C	C	V	T	N	F	S	K	I	L	L	S	A	F	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	

Tabulka 11: Záměny aminokyselin v čípkovém opsinu LWS u cichlid.

	10	42	46	50	59	63	111	115	116	123	137	155	162	164	165	169	170	172	181	196	206	213	214	217	218	228	248	261	262	292	331
Heterochromis multidens LWS	V	V	V	L	L	A	I	Y	V	T	I	G	V	S	A	A	P	I	H	E	V	I	I	A	I	L	R	X	-	A	D
Chromidotilapia linki LWS	V	A	V	L	L	A	V	F	V	A	I	G	V	S	S	S	L	I	H	E	T	I	I	A	I	M	R	Y	I	A	D
Chromidotilapia loennbergi LWS	V	F	V	L	L	A	I	F	V	A	I	A	V	S	A	S	L	I	H	E	T	I	I	A	I	M	R	Y	I	A	D
Parananochromis caudifasciatus LWS	V	L	V	L	L	A	I	F	V	A	V	G	V	A	A	S	L	I	H	D	T	F	L	G	I	L	R	Y	I	A	E
Pelvicachromis kribensis LWS	V	L	V	L	L	M	I	F	V	T	I	G	C	S	A	S	L	I	H	E	T	I	I	A	I	M	K	Y	I	A	D
Hemichromis elongatus LWS	A	L	V	L	L	W	I	F	V	A	I	G	V	S	A	A	P	M	H	E	V	F	I	A	I	L	K	Y	C	A	D
Etia nguti LWS	A	V	F	A	L	W	I	F	V	A	I	G	V	S	A	A	P	M	H	E	V	I	I	A	V	L	K	Y	C	A	D
Oreochromis niloticus LWS	T	V	F	A	L	W	V	F	T	A	I	G	V	S	A	A	P	I	H	E	V	I	I	G	I	L	K	Y	C	A	D
Pelmatolapia mariae LWS	V	x	V	x	L	W	I	Y	V	A	I	G	V	A	G	A	P	M	H	E	V	F	L	G	V	M	K	Y	C	A	D

Pro RH2 opsiny bylo v minulosti určeno devět klíčových pozic, ale změny mezi zkoumanými druhy byly pouze na dvou z nich, 49 a 52 (viz tabulky 10a a 10b). RH2Aalfa a RH2Abeta se mezi sebou liší méně než modré opsiny v předchozím případě, majoritní rozdíly jsou pouze na čtyřech pozicích (pro RH2Aalfa platí M31, V32, I36 a Y47; pro RH2Abeta je to L31, A32, F36 a F37). Na většině dalších námi zjištěných pozic jsou mutace spíše náhodně rozmístěny v rámci každého druhu a nesledují žádný vzorec. Zároveň se obě sekvence liší mnohem více od sekvence RH2B opsinu, a to celkem na 50 pozicích.

Pro LWS opsiny byly zatím určeny pouze čtyři klíčové pozice, avšak jen na pozici 164 mají *Parananochromis caudifasciatus* a *Pelmatolapia mariae* místo serinu alanin (viz Tabulka 11).

4.3.2 Záměny aminokyselin v opsinových proteinech u kaprovitých ryb

Kaprovité ryby mají ve většině případů v proteinech více odlišných pozic než africké cichlidy. Pro RH1 opsiny je 132 pozic variability (viz tabulky 12a, 12b a 12c), pro SWS1 opsin 90 (viz Tabulka 13), pro SWS2 opsin 38 (viz Tabulka 14), pro RH2 opsiny 107 pozic (viz tabulky 15a, 15b a 15c) a pro LWS opsin celkem 64 pozic (viz Tabulka 16).

Na rozdíl od cichlid mají kaprovité ryby dvě kopie genu pro tyčinkový opsin a v jeho proteinu více míst pro aminokyselinové záměny. Z osmi původních klíčových míst jsou záměny pouze na místech 194, 195 a 261. Tyto kopie se mezi sebou liší celkem na 78 pozicích (viz tabulky 12a, 12b a 12c). Jelec jesen (*Leuciscus idus*) má na rozdíl od ostatních ryb tři kopie RH1 opsinu, parma obecná (*Barbus barbus*) má kopie čtyři.

Ze třinácti klíčových aminokyselinových pozic došlo u SWS1 opsinu k záměnám u sedmi z nich (viz Tabulka 13).

Pro modré SWS2 opsiny bylo určeno dvanáct klíčových pozic a záměny aminokyselin jsou u kaprovitých ryb přítomny na sedmi z nich: 44, 46, 91, 94, 109, 116 a 261 (viz Tabulka 14). Kapr obecný (*Cyprinus carpio*) má dvě kopie opsinu SWS2, které se liší v osmnácti aminokyselinách.

Pro RH2 opsiny bylo původně určeno devět klíčových pozic a u kaprovitých ryb dochází k záměnám na sedmi z nich (viz tabulky 15a, 15b a 15c).

LWS opsin má původně určených pět klíčových pozic, přičemž u kaprovitých ryb se mění aminokyseliny na dvou, 164 a 261 (viz Tabulka 16).

Tabulka 12a: Záměny aminokyselin v tyčinkovém opsinu RH1 u kaprovitých ryb.

	7	8	11	16	17	19	21	25	29	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	45	49	51	52	53	54	56	60	63	64	65	66	81	82	83	95	96	99	102	105	108	112	115	119
Oreochromis niloticus RH1	P	F	V	T	T	I	R	E	H	V	S	P	A	A	Y	A	A	L	G	A	F	L	G	F	P	I	F	Y	I	E	H	K	V	A	D	M	Y	M	Y	L	L	L	F	L
Danio rerio RH1 HM367062	P	D	V	E	S	V	R	E	F	A	S	P	F	A	F	Y	C	M	A	A	L	V	C	V	P	V	G	Y	I	E	N	K	V	A	D	F	Y	M	Y	L	A	L	L	V
Cyprinus carpio RH1_b_like	P	D	V	E	V	T	V	R	E	F	A	S	P	M	A	F	Y	C	V	A	A	L	V	C	I	P	V	G	Y	I	E	N	K	V	A	D	F	Y	L	Y	L	A	L	L
Alburnus alburnus RH1_b	P	D	V	E	V	V	R	E	Y	A	S	E	G	V	F	Y	C	V	A	A	L	I	C	T	I	I	G	Y	V	G	N	T	V	A	D	L	Y	L	Y	L	A	L	L	
Scardinius erythrophthalmus RH1_b	P	D	I	E	T	V	R	E	Y	A	S	E	G	A	F	Y	C	V	A	A	L	I	C	T	I	I	G	Y	V	E	N	T	V	A	D	F	Y	L	Y	L	L	I	L	L
Scardinius erythrophthalmus RH1_b	P	D	I	E	T	V	R	E	Y	?	?	?	?	V	Y	Y	C	V	A	A	L	I	C	T	I	I	G	Y	V	E	N	T	V	A	D	F	Y	L	Y	L	A	I	L	L
Rutilus rutilus RH1_b	P	D	I	E	T	V	R	E	Y	A	S	E	G	A	Y	Y	C	V	A	A	F	I	C	T	I	I	G	Y	V	E	N	T	V	A	D	F	Y	L	Y	L	A	L	L	L
Rutilus rutilus RH1_b	P	D	I	E	T	V	R	E	Y	A	S	E	G	V	Y	Y	C	V	A	A	F	I	C	x	I	I	G	Y	V	E	N	T	V	A	D	F	Y	L	Y	L	A	L	L	L
Abramis brama RH1_b	P	D	I	E	T	V	R	E	F	A	S	E	G	V	Y	Y	C	V	A	A	F	I	C	T	I	I	G	Y	V	E	N	T	V	A	D	F	Y	L	Y	L	A	L	L	L
Blicca bjoerkna RH1_b	P	D	V	E	T	V	R	E	F	A	S	E	G	V	Y	Y	C	V	A	A	F	I	C	T	I	I	G	Y	V	E	N	T	V	A	D	F	Y	L	Y	L	A	I	L	L
Vimba vimba RH1_b	P	D	I	E	T	V	R	E	F	A	S	E	G	V	Y	Y	C	V	A	A	F	I	C	T	I	I	G	H	V	E	N	T	V	A	D	F	Y	L	Y	L	A	I	L	L
Leuciscus leuciscus RH1_b	P	D	I	E	T	V	R	E	Y	A	S	E	G	V	Y	Y	C	V	A	A	F	I	C	T	I	I	G	Y	V	E	N	T	V	A	D	F	Y	L	Y	L	A	I	L	L
Leuciscus idus RH1_b1	P	D	I	E	T	V	R	E	Y	A	S	E	G	V	Y	Y	C	V	A	A	F	I	C	T	I	I	G	Y	V	E	N	T	V	A	D	F	Y	L	Y	L	A	I	L	L
Leuciscus idus RH1_b2	S	D	I	E	T	V	R	E	Y	A	S	E	G	V	Y	Y	C	V	A	A	F	I	C	T	I	I	G	Y	V	E	N	T	V	A	D	F	Y	L	Y	L	A	M	L	L
Leuciscus idus RH1_b	P	D	I	E	T	V	R	E	Y	A	S	E	G	V	Y	Y	C	V	A	A	F	I	C	T	I	I	G	Y	V	E	N	T	V	A	D	F	Y	L	Y	L	A	M	L	L
Aspius aspius RH1_b	P	D	I	E	T	V	R	E	Y	A	S	E	G	V	Y	Y	C	V	A	A	F	I	C	T	I	I	G	Y	V	E	N	T	V	A	D	F	Y	L	Y	L	A	M	L	L
Barbus barbus RH1_b1	P	D	V	V	T	V	R	E	Y	A	S	P	L	A	F	Y	C	V	A	A	F	V	C	I	x	x	G	Y	x	x	N	K	V	A	D	F	Y	L	Y	L	A	L	L	L
Barbus barbus RH1_b2	P	D	V	V	T	V	R	E	Y	A	S	P	L	A	F	Y	C	V	A	T	F	V	C	I	P	V	G	Y	V	E	N	K	V	A	D	F	Y	L	Y	L	A	L	L	L
Danio rerio RH1 NM131084	P	A	V	A	T	V	R	E	Y	V	A	P	V	A	Y	G	F	V	A	A	F	I	G	F	P	V	F	Y	I	E	H	K	I	A	D	M	Y	L	Y	F	L	L	F	L
Cyprinus carpio RH1_d	P	M	V	A	T	V	K	D	Y	V	A	P	W	A	Y	G	C	L	A	A	F	I	G	F	P	I	F	Y	I	E	H	K	I	S	D	M	Y	L	Y	F	I	L	F	L
Alburnus alburnus RH1_d	P	A	V	A	T	V	R	E	Y	V	A	P	W	A	Y	A	C	L	G	A	F	L	G	F	P	I	F	Y	I	E	H	K	V	G	D	I	Y	M	Y	L	M	F	L	L
Scardinius erythrophthalmus RH1_d	P	A	V	A	T	V	R	D	Y	V	A	P	W	A	Y	A	C	L	G	A	F	L	G	F	P	I	F	Y	I	E	H	K	V	G	D	I	Y	M	Y	L	A	L	F	L
Squalius cephalus RH1_d	P	A	V	A	T	V	R	E	Y	A	P	P	W	G	Y	A	C	L	G	A	F	L	G	F	P	I	F	Y	I	E	H	K	V	G	D	I	Y	M	Y	L	A	L	F	L
Rutilus rutilus RH1_d	P	A	V	A	T	V	R	E	Y	A	P	P	W	G	Y	A	C	L	G	A	F	L	G	F	P	I	F	Y	I	E	H	K	V	G	D	I	Y	M	Y	L	L	F	L	L
Abramis brama RH1_d	P	A	V	A	T	V	R	E	Y	V	E	P	W	G	F	A	C	L	A	A	F	L	G	F	P	I	F	Y	I	E	H	K	V	G	D	I	Y	M	Y	L	L	F	L	L
Blicca bjoerkna RH1_d	P	A	V	A	T	V	R	E	Y	V	E	P	W	G	Y	A	C	L	A	A	F	L	G	F	P	I	F	Y	I	E	H	K	V	G	D	I	Y	M	Y	L	L	F	L	L
Vimba vimba RH1_d	P	A	V	A	T	V	R	E	Y	V	E	P	W	G	Y	A	C	L	A	A	F	L	G	F	P	I	F	Y	I	E	H	K	V	G	D	I	Y	M	Y	L	L	F	L	L
Leuciscus leuciscus RH1_d	P	A	V	A	T	V	R	E	Y	V	E	P	W	G	Y	A	C	L	A	A	F	L	G	F	P	I	F	Y	I	E	H	K	V	G	D	I	Y	M	Y	L	L	F	L	L
Leuciscus idus RH1_d	P	A	V	A	T	V	R	E	Y	V	A	P	W	A	Y	A	C	L	A	A	F	L	G	F	P	I	F	Y	I	E	H	K	V	G	D	I	Y	M	Y	L	L	F	L	L
Leuciscus idus RH1_d	P	A	V	A	T	V	R	E	Y	V	A	P	W	A	Y	A	C	L	G	A	F	L	G	F	P	I	F	Y	I	E	H	K	V	G	D	I	Y	M	Y	L	L	F	L	L
Aspius aspius RH1_d	P	A	V	A	T	V	R	D	Y	V	A	P	W	A	Y	A	C	L	G	A	F	L	G	F	P	I	F	Y	I	E	H	K	V	G	D	I	Y	M	Y	L	L	F	L	L
Barbus barbus RH1_d1	P	A	V	A	T	V	R	E	Y	V	A	P	W	A	Y	A	C	L	A	A	F	L	G	F	P	V	F	Y	I	E	H	K	V	S	D	M	Y	L	Y	F	L	L	F	L
Barbus barbus RH1_d2	P	A	V	A	T	V	R	E	Y	V	A	P	W	A	Y	A	C	L	A	A	F	L	G	F	P	V	F	Y	I	E	H	K	V	S	D	M	Y	L	Y	F	L	L	F	L
Cyprinus carpio RH1_c	P	M	V	A	T	V	K	D	Y	V	A	P	W	A	Y	G	C	L	A	A	F	I	G	F	P	V	F	Y	I	E	H	K	I	S	D	M	Y	L	Y	F	V	L	F	L

Tabulka 12b: Záměny aminokyselin v tyčinkovém opsinu RH1 u kaprovitých ryb.

	122	123	124	126	127	128	131	133	137	143	144	145	149	150	151	154	155	158	159	160	162	165	166	169	173	183	194	195	196	197	198	199	209	212	213	216	217	218	220	227	229	232	235	251	
Oreochromis niloticus RH1	E	I	G	W	S	L	L	V	L	I	S	N	G	E	N	I	M	A	F	T	L	L	S	G	V	M	R	A	E	G	F	N	I	F	L	L	T	V	F	L	A	E	A	T	
Danio rerio RH1 HM367062	E	I	A	W	S	L	L	V	V	F	T	K	S	Q	L	T	L	A	F	S	S	C	S	I	L	L	P	N	P	E	T	E	V	F	S	L	T	I	S	L	T	V	A	T	
Cyprinus carpio RH1_b_like	E	I	A	W	S	L	L	V	V	F	T	N	T	Q	L	T	F	S	I	S	L	C	S	I	L	L	L	N	P	E	T	E	V	F	S	L	T	I	C	L	T	I	A	T	
Alburnus alburnus RH1_b	E	I	A	W	S	L	M	V	V	F	A	K	T	Q	L	T	F	A	F	S	T	C	S	I	L	L	L	N	P	E	T	E	V	F	T	L	I	V	S	L	V	V	A	N	
Scardinius erythrophthalmus RH1_b	E	I	A	W	S	L	L	I	V	F	A	K	T	Q	L	T	F	A	F	S	V	C	T	I	I	L	L	N	P	G	T	E	V	F	T	L	I	V	S	L	V	V	A	N	
Squalius cephalus RH1_b	E	I	A	W	S	L	L	V	V	F	T	K	T	Q	L	T	L	A	F	S	T	x	T	I	I	L	L	N	P	E	T	E	V	F	S	L	I	I	S	V	V	V	A	N	
Rutilus rutilus RH1_b	E	I	A	W	S	L	L	F	V	F	A	K	T	Q	L	T	F	A	F	S	T	S	I	L	L	L	N	P	E	T	E	V	F	S	L	I	I	V	C	L	A	V	A	N	
Abramis brama RH1_b	E	I	A	W	S	L	L	F	V	F	A	K	T	Q	L	T	F	A	F	S	T	C	T	I	I	L	L	N	P	E	T	E	V	F	S	L	I	V	S	L	A	V	A	N	
Blicca bjoerkna RH1_b	E	I	A	W	S	L	L	F	V	F	A	K	T	Q	L	T	F	A	F	S	T	C	S	I	I	L	L	N	P	E	T	E	V	F	S	L	I	V	S	L	A	V	A	N	
Vimba vimba RH1_b	E	I	A	W	S	L	L	F	V	F	A	K	T	Q	L	T	F	A	F	S	T	C	T	I	I	L	L	N	P	E	T	E	V	F	S	L	I	V	S	L	A	V	A	N	
Leuciscus leuciscus RH1_b	E	I	A	W	S	L	L	V	V	F	A	K	T	Q	L	T	L	A	F	S	T	S	T	I	I	L	L	N	P	E	T	E	V	F	S	L	I	V	S	L	A	V	A	T	
Leuciscus idus RH1_b1	E	I	A	W	S	L	L	V	V	F	A	K	T	Q	L	T	F	A	F	S	T	S	T	L	I	L	L	N	P	E	T	E	V	F	S	L	I	V	S	L	A	V	A	T	
Leuciscus idus RH1_b2	E	I	A	W	S	L	L	V	V	F	A	K	T	Q	L	T	L	A	F	S	T	S	T	I	I	L	L	N	P	E	T	E	V	F	S	L	I	V	S	L	A	V	A	T	
Aspius aspius RH1_b	E	I	A	W	S	L	L	V	V	F	A	K	T	Q	L	T	L	A	F	S	T	S	T	I	I	L	L	N	P	E	T	E	V	F	S	L	I	I	S	L	T	V	A	T	
Barbus barbus RH1_b1	E	I	A	W	S	L	L	V	V	F	S	K	T	Q	L	T	F	A	I	T	T	C	S	V	L	L	L	N	P	E	T	E	V	F	S	L	I	I	S	L	T	V	A	T	
Barbus barbus RH1_b2	E	I	A	W	S	L	L	V	V	F	S	K	T	E	L	T	F	A	I	T	S	C	S	V	L	L	L	N	P	E	T	E	V	F	S	L	I	I	S	L	T	V	A	T	
Danio rerio RH1 NM131084	E	M	G	K	S	L	L	I	M	V	S	N	G	E	N	I	M	A	F	T	V	C	S	V	V	M	R	T	P	G	V	N	I	F	F	L	I	V	F	V	T	E	R	T	
Cyprinus carpio RH1_d	E	M	G	W	S	L	L	F	M	V	S	N	G	E	N	I	M	V	F	T	F	C	T	V	V	M	R	A	P	G	Y	N	L	F	I	L	I	V	F	V	T	D	A	T	
Alburnus alburnus RH1_d	E	I	A	W	C	I	L	I	I	I	S	N	G	E	N	I	M	V	F	T	V	A	S	V	V	M	R	A	E	G	Y	N	L	A	L	F	I	V	F	V	T	E	A	T	
Scardinius erythrophthalmus RH1_d	E	I	A	W	C	I	L	V	I	I	S	N	G	E	N	I	M	V	F	T	S	S	V	V	M	R	A	E	E	Y	N	L	A	L	F	I	I	F	V	T	E	A	T		
Squalius cephalus RH1_d	E	I	A	W	C	I	L	I	I	I	S	N	G	E	N	I	M	V	F	T	V	S	S	V	V	M	R	A	E	G	Y	N	L	A	L	F	I	V	F	V	T	E	A	T	
Rutilus rutilus RH1_d	E	I	A	W	C	I	L	I	I	I	S	N	G	E	N	I	M	V	F	T	V	S	S	V	V	M	R	A	E	G	Y	N	L	A	L	F	I	V	F	V	T	E	A	T	
Abramis brama RH1_d	E	I	A	W	C	I	L	I	I	I	S	N	G	E	N	I	M	V	F	T	V	C	S	V	V	M	R	A	E	G	Y	N	L	A	L	F	I	V	F	V	T	E	A	T	
Blicca bjoerkna RH1_d	E	I	A	W	C	I	L	I	I	I	S	N	G	E	N	I	M	V	F	T	V	S	S	V	V	M	R	A	E	G	Y	N	L	A	L	F	I	V	F	V	T	E	A	T	
Vimba vimba RH1_d	E	I	A	W	C	I	L	I	I	I	S	N	G	E	N	I	M	V	F	T	V	S	S	V	V	M	R	A	E	G	Y	N	L	A	L	F	I	V	F	V	T	E	A	T	
Leuciscus leuciscus RH1_d	E	I	A	W	C	I	L	I	I	I	S	N	G	E	N	I	M	V	F	T	V	A	S	V	V	M	R	A	E	G	Y	N	L	A	L	F	I	V	F	V	T	E	A	T	
Leuciscus idus RH1_d	E	I	A	W	C	I	L	I	I	I	S	N	G	E	N	I	M	V	F	T	V	S	S	V	V	M	R	A	E	G	Y	N	L	A	L	F	I	V	F	V	T	E	A	T	
Leuciscus leuciscus RH1_d	E	I	A	W	C	I	L	I	I	I	S	N	G	E	N	I	M	V	F	T	V	A	S	V	V	M	R	A	E	G	Y	N	L	A	L	F	I	I	F	V	T	E	A	T	
Aspius aspius RH1_d	E	I	A	W	C	I	L	I	I	I	S	N	G	E	N	I	M	V	F	T	V	A	S	V	V	M	R	A	E	G	Y	N	L	A	L	F	I	I	F	V	T	E	A	T	
Barbus barbus RH1_d1	E	M	G	W	S	L	L	F	M	V	S	N	G	E	N	I	M	V	F	T	I	C	S	V	V	M	R	A	E	P	G	V	N	I	F	T	L	I	V	F	V	T	E	A	T
Barbus barbus RH1_d2	E	M	G	W	S	L	L	F	M	V	S	N	G	E	N	I	M	V	F	T	I	C	S	V	V	M	R	V	P	G	V	N	I	F	T	L	I	V	F	V	T	E	A	T	
Cyprinus carpio RH1_c	E	M	G	W	S	L	L	F	M	V	S	N	G	E	N	I	M	V	F	T	F	C	T	V	V	M	R	A	P	G	Y	N	L	F	I	L	I	V	F	V	T	D	A	T	

Tabulka 12c: Záměny aminokyselin v tyčinkovém opsinu RH1 u kaprovitých ryb.

	255	256	258	259	260	261	263	266	270	278	281	282	284	286	290	292	297	298	300	304	307	308	309	315	316	317	318	319	320	321	322	323	325	326	329	330	333	335	336	337	341	342	346	348	
Oreochromis niloticus RH1	V	I	V	I	S	F	I	L	G	H	S	E	G	V	L	A	S	S	I	L	I	C	M	H	C	M	I	T	T	L	C	C	K	N	-	E	A	T	T	A	E	A	S	S	
Danio rerio RH1 HM367062	I	L	V	I	A	F	I	L	S	H	S	Q	G	V	V	A	S	S	L	L	V	F	M	H	S	M	M	M	T	T	V	C	C	K	D	Q	D	S	S	K	E	T	A	S	S
Cyprinus carpio RH1_b_1like	I	L	I	V	A	F	I	L	S	H	S	Q	G	I	V	A	S	S	L	L	V	F	M	H	S	V	x	S	I	L	F	C	N	D	H	D	S	T	S	K	Q	T	S	S	
Alburnus alburnus RH1_b	I	L	I	V	A	F	I	V	S	H	S	Q	S	I	I	A	S	S	L	L	V	M	M	H	S	V	s	I	L	F	C	N	D	H	D	S	T	S	K	Q	T	S	S		
Scardinius erythrophthalmus RH1_b	I	L	V	I	A	F	I	V	S	H	S	Q	S	I	I	A	S	S	L	L	V	M	M	H	S	V	M	L	I	L	F	C	N	D	H	D	S	T	S	K	A	T	S	S	
Squalius cephalus RH1_b	I	L	V	I	A	F	I	V	S	H	S	Q	S	I	I	A	S	S	L	L	V	M	M	H	S	V	M	L	I	L	F	C	N	D	H	E	S	T	S	K	E	T	S	S	
Rutilus rutilus RH1_b	I	L	V	I	A	F	I	V	S	H	S	Q	S	I	I	A	S	S	L	L	I	M	M	H	S	V	M	L	I	L	F	C	N	D	H	D	S	T	S	V	A	T	S	S	
Abramis brama RH1_b	I	L	V	I	A	F	I	V	S	H	S	Q	S	I	I	A	S	S	L	L	V	M	M	H	S	V	M	L	I	L	F	C	N	D	H	D	S	T	S	K	A	T	S	S	
Blicca bjoerkna RH1_b	I	L	V	I	A	F	I	V	S	H	S	Q	S	I	I	A	S	S	L	L	V	M	M	H	S	V	M	L	I	L	C	C	N	D	H	D	S	T	S	K	A	T	S	S	
Vimba vimba RH1_b	I	L	V	I	A	F	I	V	S	H	S	E	S	I	I	A	S	S	L	L	I	M	M	H	S	V	M	L	I	L	C	C	N	D	H	D	S	T	S	K	A	T	S	S	
Leuciscus leuciscus RH1_b	I	L	V	I	A	F	I	V	S	H	S	Q	S	I	I	A	S	S	L	L	V	M	M	H	S	V	M	L	I	L	F	C	N	D	H	D	S	T	S	K	E	T	S	S	
Leuciscus idus RH1_b1	I	L	V	I	A	F	I	V	S	H	S	Q	S	I	I	A	S	S	L	L	V	M	M	H	S	V	M	L	I	L	F	C	N	D	H	D	S	T	S	K	E	T	S	S	
Leuciscus idus RH1_b2	I	L	V	I	A	F	I	V	S	H	S	Q	S	I	I	A	S	S	L	L	V	M	M	H	S	V	M	L	I	L	F	C	N	D	H	D	S	T	S	K	E	T	S	S	
Aspius aspius RH1_b	I	L	V	I	A	F	I	V	S	H	S	Q	S	I	I	A	S	S	L	L	V	M	M	H	S	V	M	L	I	L	F	C	N	D	H	D	S	T	S	K	E	T	S	S	
Barbus barbus RH1_b1	I	L	V	I	A	F	I	L	S	H	S	Q	S	I	I	A	S	S	L	L	V	F	M	H	S	M	M	L	I	L	C	F	K	D	Q	D	S	T	S	K	E	T	S	S	
Barbus barbus RH1_b2	I	L	V	I	A	F	I	L	S	N	S	Q	G	I	I	A	S	S	L	L	V	F	M	H	S	M	M	L	I	L	C	C	K	D	Q	D	S	T	S	K	E	T	S	S	
Danio rerio RH1 NM131084	I	I	V	I	A	F	I	L	G	H	S	E	G	V	L	A	T	S	V	C	I	C	M	H	C	M	I	T	T	L	C	C	K	N	-	E	A	T	T	A	E	A	S	S	
Cyprinus carpio RH1_d	V	I	V	I	G	F	I	L	S	H	S	E	G	V	V	A	S	A	V	C	I	C	M	N	C	M	I	T	T	L	C	C	K	N	-	E	A	T	T	A	E	A	S	S	
Alburnus alburnus RH1_d	V	L	G	F	A	Y	V	L	S	H	S	E	G	V	I	A	T	S	V	L	I	L	M	H	C	M	I	T	R	L	C	C	K	N	-	E	A	T	T	A	E	A	S	S	
Scardinius erythrophthalmus RH1_d	V	L	G	F	A	Y	V	L	S	H	S	E	G	V	I	A	T	S	V	L	I	L	M	H	C	M	I	T	T	L	C	C	K	N	-	E	A	T	T	A	E	A	S	S	
Squalius cephalus RH1_d	V	L	G	F	A	Y	V	L	S	H	S	E	G	V	I	A	T	S	V	L	I	L	M	H	C	M	I	T	T	L	C	C	K	N	-	E	A	T	T	A	E	A	S	S	
Rutilus rutilus RH1_d	V	L	G	F	A	Y	V	L	S	H	S	E	G	V	I	A	T	S	V	L	I	L	M	H	C	M	I	T	T	L	C	C	K	N	-	E	A	T	T	A	E	A	S	S	
Abramis brama RH1_d	V	L	G	F	A	Y	V	L	S	H	S	A	G	V	I	A	T	S	V	L	I	L	M	H	C	M	I	T	T	L	C	C	K	N	-	E	A	T	T	A	E	A	S	V	
Blicca bjoerkna RH1_d	V	L	G	F	A	Y	V	L	S	H	S	A	G	V	I	A	T	S	V	L	I	L	M	H	C	M	I	T	T	L	C	C	K	N	-	E	A	T	T	A	E	A	S	V	
Vimba vimba RH1_d	V	L	G	F	A	Y	V	L	S	H	S	S	G	V	I	A	T	S	V	L	I	L	M	H	C	M	I	T	T	L	C	C	K	N	-	E	A	T	T	A	E	A	S	V	
Leuciscus leuciscus RH1_d	V	L	G	F	A	Y	V	L	S	H	S	E	G	V	I	A	T	S	V	L	I	L	M	H	C	M	I	T	T	L	C	C	K	N	-	E	A	T	T	A	E	A	S	V	
Leuciscus idus RH1_d	V	L	G	F	A	Y	V	L	S	H	S	E	G	V	I	A	T	S	V	L	I	L	M	H	C	M	I	T	T	L	C	C	K	N	-	E	A	T	T	A	E	A	S	S	
Aspius aspius RH1_d	V	L	G	F	A	Y	V	L	S	H	S	E	G	V	I	A	T	S	V	L	I	L	M	H	C	M	I	T	T	L	C	C	K	N	-	E	A	T	T	A	E	A	S	S	
Barbus barbus RH1_d1	I	I	V	I	G	F	I	T	S	N	T	E	G	L	V	A	T	S	V	C	I	C	L	N	C	M	I	T	T	L	C	C	K	N	-	E	A	T	T	A	E	A	S	S	
Barbus barbus RH1_d2	I	I	V	I	G	F	I	T	S	N	T	E	G	L	V	A	T	S	V	C	I	C	L	N	C	M	I	T	T	L	C	C	K	N	-	E	A	T	T	A	E	A	S	S	
Cyprinus carpio RH1_c	V	I	V	I	G	F	I	I	S	H	S	E	G	V	V	A	S	A	V	C	I	C	M	N	C	M	I	T	T	L	C	C	K	N	-	E	A	T	T	A	E	A	S	S	

Tabulka 13: Záměny aminokyselin v čípkovém opsinu SWS1 u kaprovitých ryb.

	11	12	14	15	16	17	19	20	21	27	31	46	49	50	52	54	56	57	58	78	82	86	87	88	90	91	93	95	96	97	99	103	104	105	107	108	109	111	113	114	116	118	145	151	154
Oreochromis niloticus SWS1	F	H	Y	E	N	I	K	V	-	P	L	F	F	A	T	L	F	V	V	N	S	F	V	T	S	V	Q	F	L	A	M	Y	F	L	H	T	L	A	E	A	V	A	A	N	L
Danio rerio SWS1	A	V	F	G	A	A	V	V	-	E	I	F	I	V	T	M	G	I	V	N	A	F	D	T	S	V	Q	S	V	C	A	Y	S	L	Y	L	S	E	A	M	S	S	G	V	
Cyprinus carpio SWS1	T	Y	F	G	L	L	V	V	-	P	L	F	L	V	T	M	A	I	V	N	G	F	D	T	S	V	Q	F	F	S	L	F	F	H	M	A	E	A	S	M	S	S	G	M	
Alburnus alburnus SWS1	A	V	F	G	L	L	I	I	-	P	L	F	L	V	T	L	A	I	I	N	A	F	D	V	S	V	Q	F	I	S	V	Y	F	L	P	L	A	E	A	M	A	G	S	I	
Squalius cephalus SWS1	V	Q	G	N	L	S	I	-	-	P	L	F	F	V	T	L	A	I	I	N	A	F	D	T	S	V	Q	F	V	S	V	Y	F	L	P	L	A	E	A	M	A	G	S	I	
Rutilus rutilus SWS1	A	V	F	G	L	L	I	I	-	P	L	F	F	V	T	L	A	I	I	N	G	F	A	T	S	V	Q	F	V	S	L	Y	F	L	P	L	A	E	S	M	S	G	N	I	
Blicca bjoerkna SWS1	V	Q	G	N	L	S	I	-	-	P	L	F	F	A	T	L	A	I	I	N	A	F	V	T	S	V	Q	F	V	S	L	Y	F	L	P	L	A	E	S	M	S	G	S	I	
Vimba vimba SWS1	A	V	F	G	N	L	K	I	S	P	L	F	F	A	T	L	A	I	I	S	A	F	V	T	S	V	Q	F	V	S	L	Y	F	L	P	T	L	A	E	S	M	S	G	S	I
Leuciscus leuciscus SWS1	V	Q	G	N	L	S	I	-	-	P	L	F	F	V	T	L	A	I	I	N	A	F	D	T	S	V	Q	F	V	S	L	Y	F	L	P	L	A	E	A	M	A	G	S	V	
Leuciscus idus SWS1	A	V	F	G	N	L	K	I	-	P	L	F	F	V	T	L	A	I	I	N	A	F	D	T	S	V	Q	F	V	S	L	Y	F	L	P	T	L	A	E	A	M	A	G	S	V
Aspius aspius SWS1	A	V	F	G	L	L	I	I	-	P	L	F	F	V	T	L	A	I	I	N	A	F	D	T	S	V	Q	F	V	S	L	Y	F	L	P	L	A	E	A	M	A	G	S	V	
Barbus barbus SWS1	A	V	Y	S	N	L	K	I	-	P	L	M	F	V	I	L	A	V	V	N	A	F	D	T	S	V	Q	F	V	S	L	F	F	L	H	T	M	A	E	S	M	S	S	I	
Oreochromis niloticus SWS1	155	158	159	162	163	165	166	169	173	186	195	197	200	208	209	213	214	216	217	220	225	241	245	248	255	261	262	263	266	270	271	273	274	276	277	278	279	280	281	287	293	299	321	333	346
Danio rerio SWS1	A	A	F	F	M	V	G	C	F	S	N	E	T	L	I	I	F	L	T	I	Q	A	K	K	I	F	V	T	G	L	A	L	Y	A	Y	S	T	D	E	L	F	C	M	S	S
Cyprinus carpio SWS1	G	V	F	I	I	T	A	T	F	A	S	E	S	L	I	M	M	I	M	T	I	Q	E	K	R	V	F	I	V	G	I	A	L	Y	G	Y	A	E	D	T	L	C	T	G	S
Alburnus alburnus SWS1	G	V	F	V	I	T	G	T	F	A	S	E	S	I	V	I	M	T	V	Q	A	K	K	I	F	V	L	A	A	T	M	W	A	N	A	D	E	S	M	F	C	T	A	A	
Squalius cephalus SWS1	G	V	F	V	V	T	G	T	F	A	S	V	S	I	V	I	M	T	V	Q	A	K	K	I	F	V	L	A	A	T	M	W	A	N	A	D	E	S	M	F	C	T	A	A	
Rutilus rutilus SWS1	C	V	F	I	M	T	G	T	F	S	S	E	S	I	V	I	M	T	V	Q	A	K	K	I	F	V	L	A	I	T	M	W	A	N	A	D	E	S	M	L	C	T	S	A	
Blicca bjoerkna SWS1	G	A	F	V	M	T	G	I	F	S	S	V	S	I	V	I	M	T	V	Q	A	K	K	I	F	V	L	A	I	T	M	W	A	N	A	D	E	S	M	L	C	S	A	A	
Vimba vimba SWS1	G	A	F	V	M	T	G	I	F	S	S	V	S	I	V	I	M	T	V	H	A	Q	K	I	F	V	L	A	I	T	M	W	A	N	A	D	E	S	M	L	C	S	A	A	
Leuciscus leuciscus SWS1	G	V	F	V	V	T	G	T	F	A	S	E	S	I	V	I	M	T	V	Q	A	K	K	I	F	V	L	A	A	T	M	W	A	N	A	D	E	S	M	F	C	T	A	A	
Leuciscus idus SWS1	G	V	F	V	V	T	G	T	F	A	S	E	S	I	V	I	M	T	V	Q	A	K	K	I	F	V	L	A	A	T	M	W	A	N	A	D	E	S	M	F	C	T	A	A	
Aspius aspius SWS1	G	V	F	V	V	T	G	T	F	A	S	E	S	I	V	I	M	T	V	Q	A	K	K	I	F	V	L	A	A	T	M	W	A	N	A	D	E	S	M	F	C	T	A	A	
Barbus barbus SWS1	G	V	F	V	I	A	G	T	W	S	S	E	S	L	V	I	M	I	T	I	Q	A	K	K	I	F	I	V	G	V	T	M	W	A	N	A	D	S	L	L	C	T	G	S	

Tabulka 14: Záměny aminokyselín v čípkovém opsinu SWS2 u kaprovitých ryb.

	1	2	3	4	6	7	8	10	11	14	17	18	20	33	36	39	41	42	43	44	45	46	47	49	50	52	53	60	65	80	81	82	85	87	88	90	91	92	93	94	95	97	99	100	101	104	105	107	108	109	
Oreochromis niloticus SWS2A	R	D	M	E	P	E	D	W	I	S	T	N	I	D	T	A	A	V	F	M	L	F	I	I	F	T	F	A	Y	S	A	A	L	S	C	G	S	F	T	A	C	S	S	F	R	I	F	A	L	A	
Oreochromis niloticus SWS2B	Q	P	T	E	P	E	D	W	I	P	T	N	I	S	V	S	A	F	M	L	F	L	V	A	T	V	A	Y	A	V	A	A	L	S	S	G	S	F	T	C	F	C	A	K	F	L	P	T	A		
Danio rerio SWS2	Q	Q	T	P	L	F	D	H	M	T	V	S	I	H	V	G	S	A	F	M	L	F	L	I	A	T	A	V	Y	A	I	S	W	S	V	G	S	S	V	A	F	A	Y	K	V	F	P	I	G		
Cyprinus carpio SWS2A_01	K	Q	I	P	F	H	D	Y	I	P	I	N	L	N	V	A	A	V	F	M	L	F	I	T	G	T	S	A	F	A	I	A	F	A	I	A	S	P	L	S	F	S	I	N	R	F	L	A	T	A	
Cyprinus carpio SWS2A_02	K	Q	V	P	F	H	D	Y	I	P	I	N	L	N	I	A	S	V	F	M	L	F	I	I	G	A	S	V	F	S	I	A	F	A	I	G	S	P	L	S	F	S	F	N	R	F	F	A	T	A	
Alburnus alburnus SWS2	K	A	V	P	F	Q	D	Y	L	P	V	N	I	H	V	A	S	F	M	L	F	V	L	I	A	T	A	A	Y	A	I	S	W	S	V	G	S	S	V	A	F	A	W	H	K	F	F	P	I	G	
Squalius cephalus SWS2A	K	A	V	P	F	Q	D	Y	I	P	V	N	I	H	V	A	A	A	F	M	L	F	I	L	V	L	T	A	V	Y	A	V	S	W	S	V	G	S	S	V	A	F	A	W	H	K	F	F	V	I	G
Rutilus rutilus SWS2A	K	A	V	H	F	Q	H	Y	I	P	V	N	I	H	V	A	A	V	Y	T	F	F	L	V	A	T	A	V	Y	A	V	A	V	S	W	S	L	G	S	L	A	S	L	N	R	F	F	P	T	G	
Abramis brama SWS2	K	A	V	H	F	Q	H	Y	I	P	V	N	I	H	V	A	A	A	Y	T	F	F	L	V	A	T	A	V	Y	A	V	A	V	S	W	S	L	G	S	L	A	S	L	N	R	F	F	P	T	G	
Blicca bjoerkna SWS2	A	V	H	E	Q	E	H	Y	I	P	V	N	I	H	V	A	A	A	Y	M	L	F	L	V	A	T	A	V	Y	A	V	A	V	S	F	S	V	G	S	I	A	F	S	L	N	R	I	L	P	T	G
Vimba vimba SWS2	K	A	V	P	F	Q	D	Y	L	A	V	N	I	H	V	A	A	I	F	M	L	F	L	I	A	T	A	V	Y	A	I	S	W	S	V	G	S	S	V	A	F	A	W	H	K	F	F	P	I	G	
Leuciscus idus SWS2	K	A	V	P	F	Q	D	Y	L	A	V	N	I	H	V	A	A	V	F	M	L	F	L	I	A	T	A	V	Y	A	I	S	W	S	V	G	S	S	V	A	F	A	W	H	K	F	F	P	I	G	
Aspius aspius SWS2	Q	V	P	E	Q	E	D	Y	I	P	V	N	L	N	V	A	A	V	F	T	F	F	L	T	G	T	S	V	F	A	V	A	I	S	V	G	S	S	I	A	F	S	F	N	K	I	F	P	T	A	
Barbus barbus SWS2 common	111	112	116	118	119	122	124	133	151	154	155	158	159	160	162	163	165	166	168	169	173	198	209	217	238	248	259	261	263	265	266	269	270	272	273	275	276	277	278	281	282	287	292	293	295	297	323	324	329	335	
Oreochromis niloticus SWS2A	K	I	M	T	L	M	S	F	D	I	A	A	F	T	F	F	L	F	S	A	F	Y	C	T	A	K	L	L	-	W	L	A	S	A	L	V	V	N	N	Q	S	L	S	C	S	A	M	G	-	T	
Oreochromis niloticus SWS2B	K	I	T	T	L	M	S	F	S	L	A	G	L	T	V	C	L	S	A	L	V	F	C	S	A	K	L	L	-	W	M	A	S	A	V	V	N	N	Q	P	L	S	C	S	A	M	S	-	S		
Danio rerio SWS2	K	I	T	T	I	M	S	L	P	I	A	I	L	P	C	M	L	A	G	L	L	F	C	S	A	R	F	F	I	W	G	A	I	A	I	V	V	S	N	A	P	L	S	C	A	F	N	E	S		
Cyprinus carpio SWS2A_01	K	I	L	T	L	M	S	F	P	I	A	I	T	I	S	L	A	S	L	F	Y	G	G	A	R	F	F	L	W	A	A	S	S	L	I	V	F	H	E	T	M	S	C	S	C	G	E	T			
Cyprinus carpio SWS2A_02	K	I	L	T	L	M	G	F	P	I	A	I	L	P	I	S	L	A	S	L	F	Y	C	G	A	R	F	F	L	W	A	A	S	S	L	I	V	S	H	E	A	M	S	C	S	A	C	G	E	T	
Alburnus alburnus SWS2	I	I	T	T	I	M	S	L	H	I	I	I	F	P	I	F	S	A	A	F	Y	C	S	S	R	F	F	L	W	G	A	C	A	I	V	V	S	H	E	P	L	S	C	C	A	C	G	D	S		
Squalius cephalus SWS2A	I	M	T	T	I	M	S	L	H	I	I	I	P	I	P	C	I	C	S	A	F	Y	C	S	A	K	F	F	L	W	G	A	C	A	L	V	I	S	H	E	P	L	S	C	C	A	C	G	E	S	
Rutilus rutilus SWS2A	V	L	A	T	L	M	S	L	H	I	V	V	I	P	V	F	L	A	S	L	F	Y	C	G	A	R	F	F	L	W	G	A	S	L	V	V	A	N	E	P	M	S	V	S	C	C	G	D	S		
Abramis brama SWS2	V	L	A	T	L	M	S	L	H	I	M	I	I	P	C	F	L	A	S	L	F	Y	C	G	A	R	F	F	V	W	G	A	S	L	V	V	A	N	E	P	M	S	V	S	C	C	G	E	S		
Blicca bjoerkna SWS2	V	L	T	T	I	M	S	L	H	I	I	I	V	P	C	F	L	A	S	L	F	Y	C	G	A	R	F	L	W	G	A	S	L	V	V	A	N	E	P	M	S	V	S	C	C	G	E	S			
Vimba vimba SWS2	V	L	T	T	I	M	S	L	H	I	I	I	V	P	C	I	L	A	S	L	F	Y	C	G	A	R	F	L	W	G	A	S	L	V	V	A	N	E	P	M	S	V	S	C	C	G	E	S			
Leuciscus leuciscus SWS2A	I	M	T	T	I	M	S	L	H	I	I	I	P	C	I	S	A	F	F	Y	C	S	A	R	V	F	W	G	A	C	A	I	V	V	S	H	E	P	L	S	C	C	A	C	G	E	S				
Leuciscus idus SWS2	I	N	T	T	I	M	S	L	H	I	I	I	P	C	I	S	A	F	F	Y	C	S	A	R	V	L	-	W	G	A	C	A	I	V	V	S	H	E	P	L	S	C	C	A	C	G	E	S			
Aspius aspius SWS2	I	M	T	T	I	M	S	L	H	I	I	I	P	C	I	S	A	F	F	Y	C	S	A	R	L	F	V	W	G	A	C	A	I	V	V	S	H	E	P	L	S	C	C	A	C	G	E	S			
Barbus barbus SWS2 common	K	I	L	T	L	M	S	F	P	I	A	V	L	P	I	S	A	S	F	F	Y	C	S	A	R	F	-	-	W	A	A	S	L	I	V	F	H	E	T	M	S	C	S	A	C	G	E	T			

Tabulka 15a: Záměny aminokyselin v čípkových opsinech RH2 u kaprovitých ryb.

	7	8	11	13	20	22	24	25	27	33	36	39	41	42	44	46	48	49	50	52	56	60	74	81	83	84	86	87	88	93	94	97	98	99	100	103
Oreochromis niloticus RH2Aalfa	K	N	I	M	V	N	F	E	P	D	T	I	A	F	M	F	I	C	T	T	G	F	Y	V	G	L	M	C	C	I	T	S	A	V	N	F
Oreochromis niloticus RH2Abeta	K	N	I	M	V	N	F	E	S	D	F	L	A	F	M	F	I	C	T	T	G	F	Y	V	G	L	M	C	C	I	T	S	A	I	N	F
Oreochromis niloticus RH2B	K	N	I	L	V	N	F	E	P	D	F	L	A	F	M	F	V	I	T	F	F	L	F	V	G	L	M	V	M	V	T	S	C	L	N	F
Danio rerio RH2-1	S	N	I	M	V	S	Y	E	T	E	K	A	A	F	M	L	I	I	F	F	V	V	Y	F	G	T	M	V	I	V	S	C	S	L	V	M
Danio rerio RH2-2	N	N	I	M	V	S	Y	E	T	D	Q	A	A	F	M	F	I	C	F	F	V	L	Y	F	G	T	M	A	F	V	T	C	S	I	N	M
Danio rerio RH2-3	N	N	I	M	V	S	Y	E	P	E	Q	L	A	V	M	F	M	C	F	F	G	V	F	V	G	T	M	V	C	V	T	T	A	I	N	F
Danio rerio RH2-4	N	N	I	L	A	S	Y	E	P	E	Q	L	A	V	M	F	I	C	L	F	G	L	F	V	G	T	M	V	C	V	T	T	A	I	N	F
Cyprinus carpio RH2_01	N	N	I	L	V	S	F	E	P	E	Q	V	A	I	I	F	I	C	L	L	G	M	F	V	G	A	M	V	C	V	T	T	A	I	N	F
Cyprinus carpio RH2_01 varianta A embryo	N	N	V	L	V	S	F	E	P	E	K	V	A	V	I	F	I	C	L	L	G	V	F	V	G	T	M	V	C	V	T	T	A	I	N	F
Cyprinus carpio RH2_02	K	N	V	L	V	S	F	E	P	E	Q	I	A	T	I	F	M	C	L	L	G	V	F	V	G	T	M	V	C	V	T	T	A	I	N	F
Alburnus alburnus RH2_01	N	N	I	M	V	S	F	D	P	E	Q	A	A	V	M	F	I	C	L	F	G	L	F	V	G	S	M	V	C	V	T	T	A	I	H	F
Alburnus alburnus RH2_02	N	N	I	M	V	S	Y	E	P	E	Q	A	A	V	F	I	C	L	F	I	L	F	V	G	T	M	V	C	V	T	T	S	I	H	F	
Alburnus alburnus RH2_03	N	N	I	M	V	S	Y	E	T	D	Q	A	A	F	M	L	I	C	F	L	V	L	F	L	G	T	M	A	L	V	T	C	S	I	A	M
Squalius cephalus RH2_A	N	N	I	M	V	S	Y	E	T	D	Q	A	A	F	M	L	I	C	F	L	V	L	F	F	G	T	M	A	L	V	T	C	S	I	A	M
Squalius cephalus RH2_B	D	S	I	M	V	N	F	E	T	E	K	A	G	F	M	L	I	I	F	L	G	L	Y	L	G	L	M	G	L	V	S	S	C	V	M	
Squalius cephalus RH2_C	N	N	V	M	V	S	Y	E	P	E	Q	G	A	V	V	F	I	C	L	F	I	V	F	V	G	T	M	V	C	V	T	T	A	I	N	F
Squalius cephalus RH2_D	S	N	I	M	V	N	F	D	T	E	K	A	G	F	M	L	I	I	F	L	V	V	Y	F	G	T	M	A	I	V	S	C	S	L	M	M
Squalius cephalus RH2_E	N	N	V	M	V	S	Y	E	P	E	Q	A	A	V	V	F	I	C	L	F	G	L	F	V	G	S	M	V	C	V	T	T	A	I	N	F
Rutilus rutilus RH2_A	N	N	I	M	V	S	Y	E	T	D	Q	A	A	F	M	L	I	C	L	F	V	L	F	F	G	T	M	A	L	V	T	C	S	I	A	M
Rutilus rutilus RH2_E varianta 01	N	N	V	M	V	S	Y	E	P	E	Q	A	A	V	V	F	I	C	L	F	G	L	F	V	G	S	M	V	C	V	T	T	A	I	N	F
Rutilus rutilus RH2_E varianta 02	N	N	I	M	V	S	Y	E	P	E	Q	V	A	V	M	F	I	C	L	F	G	L	F	V	G	S	M	V	C	V	T	T	A	I	N	F
Abramis brama RH2 01 part	N	N	V	M	V	S	x	E	P	E	Q	V	A	V	M	F	I	C	L	F	x	L	F	V	G	T	M	V	C	V	T	T	A	I	N	F
Abramis brama RH2_02alpha	N	N	V	M	V	S	F	E	P	E	Q	A	A	V	V	F	I	C	L	F	V	V	F	V	G	T	M	V	C	F	T	T	A	I	N	F
Abramis brama RH2_02beta	N	N	V	M	V	S	Y	E	P	E	Q	A	A	V	V	F	I	C	L	F	I	V	F	V	G	T	M	V	C	V	T	T	A	I	N	F
Blicca bjoerkna RH2_01 embryo	N	N	V	M	V	S	Y	E	P	E	Q	V	A	V	M	F	I	C	L	F	I	V	F	V	G	T	M	V	C	V	T	T	A	I	N	F
Blicca bjoerkna RH2_02alpha embryo	N	N	I	M	V	S	Y	E	T	D	Q	A	A	F	M	L	I	C	F	L	G	L	F	V	G	T	M	A	L	V	T	C	S	I	A	M
Vimba vimba RH2 02	N	N	V	M	V	N	Y	E	P	E	Q	V	A	V	M	F	I	C	L	F	x	V	F	V	G	x	M	V	C	V	T	T	A	I	N	F
Leuciscus leuciscus RH2_01 partial	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Leuciscus leuciscus RH2_02	N	N	V	M	V	S	Y	E	P	E	K	A	A	V	V	F	I	C	L	F	I	V	F	V	G	T	M	V	C	V	T	T	A	M	N	F
Leuciscus idus RH2 01	N	N	V	M	V	S	Y	E	P	E	Q	A	A	V	V	F	I	C	L	F	G	L	F	V	G	S	M	V	C	V	T	T	A	I	H	F
Leuciscus idus RH2 02	N	N	V	M	V	S	Y	E	P	E	Q	A	A	V	V	F	I	C	L	F	I	V	F	V	G	T	M	V	C	V	T	T	A	M	N	F
Aspius aspius RH2_01	N	N	I	M	V	S	Y	E	P	E	Q	A	A	V	V	F	I	C	L	F	G	L	F	V	G	S	M	V	C	V	T	T	A	I	H	F
Aspius aspius RH2_02	N	N	I	M	V	S	Y	E	P	E	Q	A	A	V	V	F	I	C	L	F	I	V	F	V	G	T	M	V	C	V	T	T	A	M	N	F
Aspius aspius RH2_03	N	N	I	M	V	S	Y	E	T	D	Q	A	A	F	M	L	I	C	F	L	V	L	F	F	G	T	M	A	L	V	T	C	S	I	A	M
Barbus barbus RH2 01	N	N	V	L	V	S	Y	E	P	E	Q	L	A	I	I	F	M	C	L	L	L	V	F	V	G	T	M	V	C	V	T	T	A	I	N	F
Barbus barbus RH2 02	N	N	V	L	V	S	F	E	P	E	K	V	A	I	I	F	M	C	L	L	V	A	F	V	G	T	M	V	C	V	T	T	A	I	N	F

Tabulka 15b: Záměny aminokyselin v čípkových opsinech RH2 u kaprovitých ryb.

	104	105	108	109	111	112	116	119	122	123	124	133	150	151	154	155	157	158	162	163	164	165	166	169	173	176	179	183	185	197	198	199	204	205	207	209
Oreochromis niloticus RH2Aalfa	I	L	T	F	A	I	M	L	E	V	A	V	G	A	G	A	V	F	V	M	A	M	A	A	F	S	I	G	C	G	F	N	V	I	M	V
Oreochromis niloticus RH2Abeta	V	L	T	F	A	I	M	I	E	V	A	V	G	A	G	A	V	L	I	M	A	M	A	A	F	S	I	G	C	G	F	N	V	I	M	V
Oreochromis niloticus RH2B	S	L	L	S	A	I	M	V	Q	V	S	V	A	T	G	V	C	A	I	M	A	M	S	A	L	S	I	G	V	G	Y	N	V	M	M	T
Danio rerio RH2-1	A	L	L	G	V	M	F	L	G	V	A	I	A	N	M	A	I	A	F	M	A	C	S	V	F	x	L	M	T	E	Y	N	V	M	M	S
Danio rerio RH2-2	A	L	T	G	A	I	F	L	G	V	A	I	S	N	M	A	I	A	V	M	A	S	S	V	F	R	I	M	T	E	F	N	V	L	M	S
Danio rerio RH2-3	V	L	T	G	A	I	M	L	G	I	S	I	S	N	F	A	I	G	I	M	A	L	S	A	V	S	I	M	C	D	Y	N	V	L	M	C
Danio rerio RH2-4	V	L	T	G	A	I	M	L	G	V	A	V	A	S	F	A	C	A	V	M	A	M	A	A	V	S	I	M	C	E	Y	N	V	L	M	I
Cyprinus carpio RH2_01	A	L	T	G	A	I	M	L	G	I	A	I	T	K	L	A	I	A	I	M	A	F	S	A	V	S	I	M	C	E	Y	N	V	I	M	V
Cyprinus carpio RH2_01 varianta A embryo	V	L	T	G	A	I	M	L	G	V	A	I	S	S	F	A	I	A	V	M	A	M	A	A	V	S	I	M	C	E	Y	N	V	I	M	V
Cyprinus carpio RH2_02	V	L	T	G	A	I	M	L	G	V	A	I	S	S	F	A	I	A	V	M	A	M	A	A	V	S	I	M	C	E	Y	N	V	I	M	V
Alburnus alburnus RH2_01	I	L	I	G	A	I	M	L	G	V	A	I	N	T	L	T	I	G	V	M	A	M	T	A	V	S	I	M	C	E	Y	N	V	V	M	T
Alburnus alburnus RH2_02	A	L	T	A	A	I	M	L	G	V	A	I	S	T	M	S	I	A	V	A	M	A	A	A	V	S	I	M	C	E	Y	N	V	L	M	T
Alburnus alburnus RH2_03	A	L	L	G	A	I	F	L	G	V	S	V	S	N	I	T	I	V	V	M	A	S	S	V	F	S	I	M	I	D	F	N	V	I	M	S
Squalius cephalus RH2_A	A	L	L	G	A	I	F	L	G	V	S	V	S	N	I	T	I	V	V	M	A	S	S	V	F	S	I	M	I	E	F	S	V	I	M	S
Squalius cephalus RH2_B	A	V	I	G	M	V	F	I	G	V	S	V	S	N	L	A	I	I	I	M	A	S	S	V	L	S	I	I	T	L	Y	N	L	I	L	T
Squalius cephalus RH2_C	I	L	T	G	A	I	M	L	G	V	A	I	T	T	M	S	I	A	A	A	M	A	A	A	L	S	I	M	C	H	Y	N	V	I	M	T
Squalius cephalus RH2_D	A	L	L	G	V	M	F	I	G	V	S	V	S	N	I	A	I	T	I	M	A	S	S	V	V	S	I	M	T	E	F	N	V	M	M	S
Squalius cephalus RH2_E	I	L	T	G	A	I	M	L	G	V	A	I	N	T	L	T	I	G	V	A	M	S	A	V	S	I	M	C	H	Y	N	V	V	M	T	S
Rutilus rutilus RH2_A	A	L	L	G	A	I	F	L	G	V	A	V	S	N	I	T	I	V	V	M	A	M	S	A	V	S	I	M	C	H	Y	N	V	V	M	T
Rutilus rutilus RH2_B	A	L	L	G	A	I	F	L	G	V	A	V	S	N	I	T	I	V	V	M	A	S	S	V	F	S	I	M	I	E	F	S	V	I	M	S
Rutilus rutilus RH2_E varianta 01	V	L	T	G	A	I	M	L	G	V	A	I	N	T	L	T	I	G	V	M	A	M	S	A	V	S	I	M	C	E	Y	N	V	V	M	T
Rutilus rutilus RH2_E varianta 02	A	L	T	G	A	I	M	L	G	V	A	I	N	T	L	T	I	G	V	M	A	M	S	A	V	S	I	M	C	E	Y	N	V	I	M	T
Abramis brama RH2 01 part	A	L	T	G	A	I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Abramis brama RH2_02alpha	V	L	T	G	A	I	M	L	G	V	A	I	T	T	M	T	I	A	V	A	M	A	A	V	S	I	M	C	A	Y	N	V	I	M	V	
Abramis brama RH2_02beta	A	L	T	G	A	I	M	L	G	V	A	I	S	T	M	T	I	A	V	A	M	A	A	A	V	S	I	M	C	A	Y	N	V	I	M	T
Blicca bjoerkna RH2_01 embryo	V	L	T	G	A	I	M	L	G	V	A	I	N	T	L	T	I	G	V	M	A	M	S	A	V	S	I	M	C	E	Y	N	V	V	M	x
Blicca bjoerkna RH2_02alpha embryo	A	L	L	G	A	I	F	L	G	V	A	V	S	N	I	T	I	V	V	M	A	C	S	V	F	S	I	M	I	E	F	N	V	I	M	S
Vimba vimba RH2 02	V	L	T	G	A	I	M	L	E	V	A	I	S	T	M	T	I	A	V	A	M	A	A	A	V	S	I	G	C	A	Y	N	V	I	M	S
Leuciscus leuciscus RH2_01 partial	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Leuciscus leuciscus RH2_02	A	L	T	G	A	I	M	L	G	V	A	I	S	T	M	T	I	G	V	A	M	A	A	A	V	S	I	M	C	H	Y	N	V	I	M	T
Leuciscus idus RH2 01	V	L	T	G	A	I	M	L	Q	V	A	I	N	T	L	T	I	G	V	M	A	M	S	A	V	S	I	G	C	E	Y	N	V	V	M	T
Leuciscus idus RH2 02	A	L	T	G	A	I	M	L	E	V	A	I	S	T	M	T	I	G	V	A	A	M	A	A	V	S	I	G	C	H	Y	N	V	I	M	T
Aspius aspius RH2_01	V	L	T	G	A	I	M	L	G	V	A	I	N	T	L	T	I	G	V	M	A	M	S	A	V	S	I	M	C	E	Y	N	V	V	M	T
Aspius aspius RH2_02	A	L	T	G	A	I	M	L	G	V	A	I	S	T	M	T	I	G	V	A	M	A	A	A	V	S	I	M	C	H	F	N	V	I	M	T
Aspius aspius RH2_03	A	L	L	G	A	I	F	L	G	V	S	V	S	N	L	T	I	V	V	M	A	C	S	V	F	S	I	M	I	E	F	S	V	I	M	S
Barbus barbus RH2 01	V	L	T	G	A	V	M	L	E	V	A	I	S	S	F	A	I	A	V	M	A	M	A	A	L	S	I	G	C	D	Y	N	V	I	M	V
Barbus barbus RH2 02	A	L	T	G	A	I	M	L	E	V	A	I	S	S	F	A	I	A	V	M	A	M	A	A	L	S	I	G	C	D	Y	N	V	I	M	V

Tabulka 15c: Záměny aminokyselin v čípkových opsinech RH2 u kaprovitých ryb.

	213	214	217	218	225	241	248	252	256	262	263	266	270	271	277	279	287	288	290	292	297	299	300	301	304	315	316	317	319	321	326	331	335		
Oreochromis niloticus RH2Aalfa	F	V	F	I	S	D	A	K	R	L	M	L	V	T	S	F	L	K	T	A	L	A	S	A	L	Y	V	N	C	M	S	I	G	D	-
Oreochromis niloticus RH2Abeta	F	V	F	I	S	D	A	K	R	L	M	L	I	T	S	F	L	K	T	A	I	A	S	A	L	Y	I	N	C	M	S	I	G	D	-
Oreochromis niloticus RH2B	C	V	F	T	N	D	A	K	R	L	L	L	F	T	S	F	F	K	A	M	I	A	S	A	L	F	I	N	C	M	S	V	G	D	-
Danio rerio RH2-1	C	I	T	T	S	E	R	R	R	L	L	L	F	V	S	F	F	R	A	I	V	A	T	A	V	F	I	-	-	-	N	L	S	D	S
Danio rerio RH2-2	C	V	T	T	S	E	R	R	L	L	L	V	V	S	F	F	R	A	M	I	A	A	A	L	F	I	-	-	-	N	L	S	D	S	
Danio rerio RH2-3	I	F	T	T	R	E	R	R	L	L	L	V	T	S	V	F	R	F	M	V	A	S	S	I	F	I	-	-	-	T	L	N	D	T	
Danio rerio RH2-4	I	L	T	I	R	E	R	R	L	L	L	I	T	T	V	F	K	F	M	V	A	T	A	L	Y	V	-	-	-	T	L	N	D	T	
Cyprinus carpio RH2_01	I	L	T	I	R	D	A	R	K	L	L	L	V	T	T	V	F	R	F	M	I	A	S	S	I	F	I	-	-	-	T	L	N	E	T
Cyprinus carpio RH2_01 varianta A embryo	I	L	T	V	R	D	A	R	K	L	x	L	x	T	T	V	F	K	F	M	I	A	S	A	L	Y	V	-	-	-	T	L	N	x	T
Cyprinus carpio RH2_02	I	L	T	V	R	D	A	R	K	L	F	L	I	T	T	V	F	K	F	M	I	A	S	A	L	Y	V	-	-	-	T	L	N	D	T
Cyprinus carpio RH2_02	M	V	T	V	R	D	A	R	K	L	L	L	V	T	T	V	F	K	F	M	V	A	S	S	I	F	I	-	-	-	T	I	N	D	T
Alburnus alburnus RH2_01	I	L	T	V	R	D	A	R	K	L	L	L	L	T	T	V	F	K	F	M	V	A	S	A	I	Y	V	-	-	-	T	L	N	D	T
Alburnus alburnus RH2_02	I	L	T	V	R	D	A	R	K	L	L	L	L	T	T	V	F	K	F	M	V	A	S	A	I	Y	V	-	-	-	T	L	N	D	T
Alburnus alburnus RH2_03	C	I	T	T	N	D	A	K	R	M	L	L	L	V	S	F	F	R	S	M	I	A	T	A	L	F	I	S	C	M	N	L	S	E	T
Squalius cephalus RH2_A	C	I	T	T	S	D	A	K	R	M	L	L	L	V	S	F	F	R	S	M	I	A	S	A	L	F	F	-	-	-	N	L	S	E	S
Squalius cephalus RH2_B	C	V	S	T	N	D	A	K	R	M	L	M	V	V	S	F	F	R	G	F	I	S	S	A	L	F	I	-	-	-	T	L	N	D	S
Squalius cephalus RH2_C	I	L	T	V	R	D	A	R	K	L	I	L	L	T	T	V	F	K	F	M	I	A	S	A	I	Y	V	-	-	-	T	L	N	D	T
Squalius cephalus RH2_D	C	I	T	T	N	D	A	K	R	M	L	L	L	V	S	F	F	R	A	M	I	A	T	A	L	F	I	-	-	-	N	L	S	E	S
Squalius cephalus RH2_E	M	V	T	I	R	D	A	R	K	L	L	L	V	T	T	V	L	R	F	M	V	A	S	S	I	F	I	-	-	-	T	L	N	D	T
Rutilus rutilus RH2_A	C	I	T	T	S	D	A	K	R	M	L	L	V	V	S	F	F	R	S	M	I	A	S	A	L	F	I	-	-	-	N	L	S	E	S
Rutilus rutilus RH2_E varianta 01	M	V	T	V	R	D	A	R	K	L	L	L	V	T	T	V	L	R	F	M	V	A	S	S	I	F	I	-	-	-	T	I	N	D	T
Rutilus rutilus RH2_E varianta 02	M	V	T	V	R	D	A	R	K	L	L	L	V	T	T	V	L	R	F	M	I	A	S	S	I	F	I	-	-	-	T	I	N	D	T
Abramis brama RH2 01 part	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Abramis brama RH2_02alpha	I	L	T	V	R	D	A	R	K	L	F	L	L	T	T	V	F	K	F	M	I	A	S	S	I	Y	V	-	-	-	T	I	N	x	T
Abramis brama RH2_02beta	I	L	T	V	R	D	A	R	K	L	F	L	L	T	T	V	F	K	F	M	I	A	S	S	I	Y	V	-	-	-	T	I	N	x	T
Blicca bjoerkna RH2_01 embryo	M	V	T	V	R	D	A	R	K	L	L	L	V	T	T	V	F	K	F	M	V	A	S	S	I	F	I	-	-	-	T	I	N	E	T
Blicca bjoerkna RH2_02alpha embryo	C	I	T	T	S	D	A	K	R	M	L	L	L	V	S	F	F	R	S	M	I	A	S	A	L	F	I	-	-	-	N	L	S	E	S
Vimba vimba RH2 02	I	L	T	V	R	D	A	R	K	L	I	L	L	T	T	V	F	K	F	M	V	A	S	A	I	Y	V	N	C	M	T	I	N	D	T
Leuciscus leuciscus RH2_01 partial	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Leuciscus leuciscus RH2_02	I	L	T	V	R	D	A	R	K	L	I	L	L	T	T	V	F	K	F	M	V	A	S	S	I	F	I	-	-	-	T	I	N	D	T
Leuciscus idus RH2 01	M	V	T	V	R	D	A	R	K	L	L	L	V	T	T	V	L	R	F	M	V	A	S	S	I	F	I	N	C	M	T	I	N	D	T
Leuciscus idus RH2 02	I	L	T	V	R	D	A	R	K	L	I	L	L	T	T	V	F	K	F	M	I	A	S	A	I	Y	V	N	C	M	T	I	N	D	T
Aspius aspius RH2_01	M	V	T	V	R	D	A	R	K	L	L	L	V	T	T	V	L	R	F	M	I	A	S	S	I	F	I	-	-	-	T	I	N	D	T
Aspius aspius RH2_02	I	L	T	V	R	D	A	R	K	L	I	L	L	T	T	V	F	K	F	M	I	A	S	A	I	Y	V	-	-	-	T	I	N	D	T
Aspius aspius RH2_03	C	I	T	T	S	D	A	K	R	M	L	L	F	V	S	F	F	R	S	M	I	A	S	A	L	F	I	-	-	-	N	L	S	E	S
Barbus barbus RH2 01	I	L	T	V	R	D	A	R	K	L	L	L	V	T	T	V	F	K	F	M	I	A	S	A	L	Y	V	N	C	M	T	L	N	D	T
Barbus barbus RH2 02	I	L	T	V	R	D	A	R	K	L	L	L	V	T	T	V	F	K	F	M	I	A	S	A	L	Y	V	N	C	M	T	L	N	D	T

Tabulka 16: Záměny aminokyselin v čípkovém opsinu LWS u kaprovitých ryb.

	2	5	6	7	8	10	12	13	18	22	39	40	42	45	49	52	69	73	77	81	85	88	89	96	99	100	106	111	112	118	119	123
Oreochromis niloticus	Y	D	T	T	G	A	T	Y	N	-	L	A	V	F	I	V	R	N	V	I	G	V	F	C	F	F	G	V	F	S	T	A
Danio rerio LWS_A	E	R	E	A	M	T	T	N	K	D	V	A	V	F	V	T	R	N	V	I	G	L	F	I	F	F	G	I	F	S	V	A
Danio rerio LWS_B	E	R	D	N	A	S	T	N	R	D	V	A	V	F	V	T	R	N	V	I	G	L	F	I	V	F	G	I	F	S	V	A
Cyprinus carpio LWS_01	E	R	E	T	M	V	T	K	K	E	V	A	V	F	I	T	H	K	L	L	G	L	L	I	I	R	I	F	C	V	-	
Cyprinus carpio LWS_02	E	R	E	T	M	V	T	N	R	D	L	A	V	F	I	T	R	N	V	I	A	L	L	I	I	F	G	I	F	S	V	A
Alburnus alburnus LWS	E	R	E	S	M	T	T	N	K	D	I	S	C	I	I	V	R	N	V	I	G	L	I	I	I	F	G	V	L	S	V	S
Scardinius erythrophthalmus LWS	E	E	T	E	M	T	T	Y	N	-	I	S	C	I	I	V	R	N	V	I	G	L	I	I	I	F	G	x	L	S	V	S
Squalius cephalus LWS	E	R	E	S	M	T	T	N	K	D	I	S	C	I	I	V	R	N	V	I	G	V	I	I	I	F	G	V	L	S	V	S
Rutilus rutilus LWS	E	R	E	S	M	T	T	N	K	D	I	S	C	I	I	V	R	N	V	I	G	L	I	I	I	F	G	V	L	S	V	S
Abramis brama LWS	D	R	E	S	M	T	T	N	K	D	L	S	C	L	V	T	R	N	V	I	A	L	L	T	F	F	G	V	F	A	T	A
Blicca bjoerkna LWS embryo	D	R	E	S	M	T	T	N	R	D	L	S	C	L	V	T	R	N	V	I	A	L	L	T	T	F	G	V	F	A	T	A
Vimba vimba LWS	x	x	T	E	M	T	T	Y	N	-	L	S	C	L	V	T	R	N	V	I	A	L	L	T	T	F	G	V	F	A	T	A
Leuciscus leuciscus LWS	E	R	E	A	M	T	T	N	K	D	I	S	C	I	I	V	R	N	V	I	G	L	L	I	I	F	G	V	L	S	V	S
Leuciscus idus	E	E	T	E	M	T	T	Y	N	-	I	S	C	I	I	V	R	N	V	I	G	L	L	I	I	F	G	V	L	S	V	S
Aspius aspius LWS	E	R	E	A	M	T	T	N	K	D	I	S	C	I	I	V	R	N	V	I	G	V	L	I	I	F	G	V	L	S	V	S
Barbus barbus LWS1	E	E	T	E	V	V	V	Y	N	-	V	A	V	F	I	T	R	N	V	I	G	L	L	I	x	F	G	V	F	S	V	A
Barbus barbus LWS2	E	E	T	E	M	V	V	Y	N	-	V	A	V	F	L	T	R	N	V	I	G	L	L	I	x	F	G	V	F	S	V	A

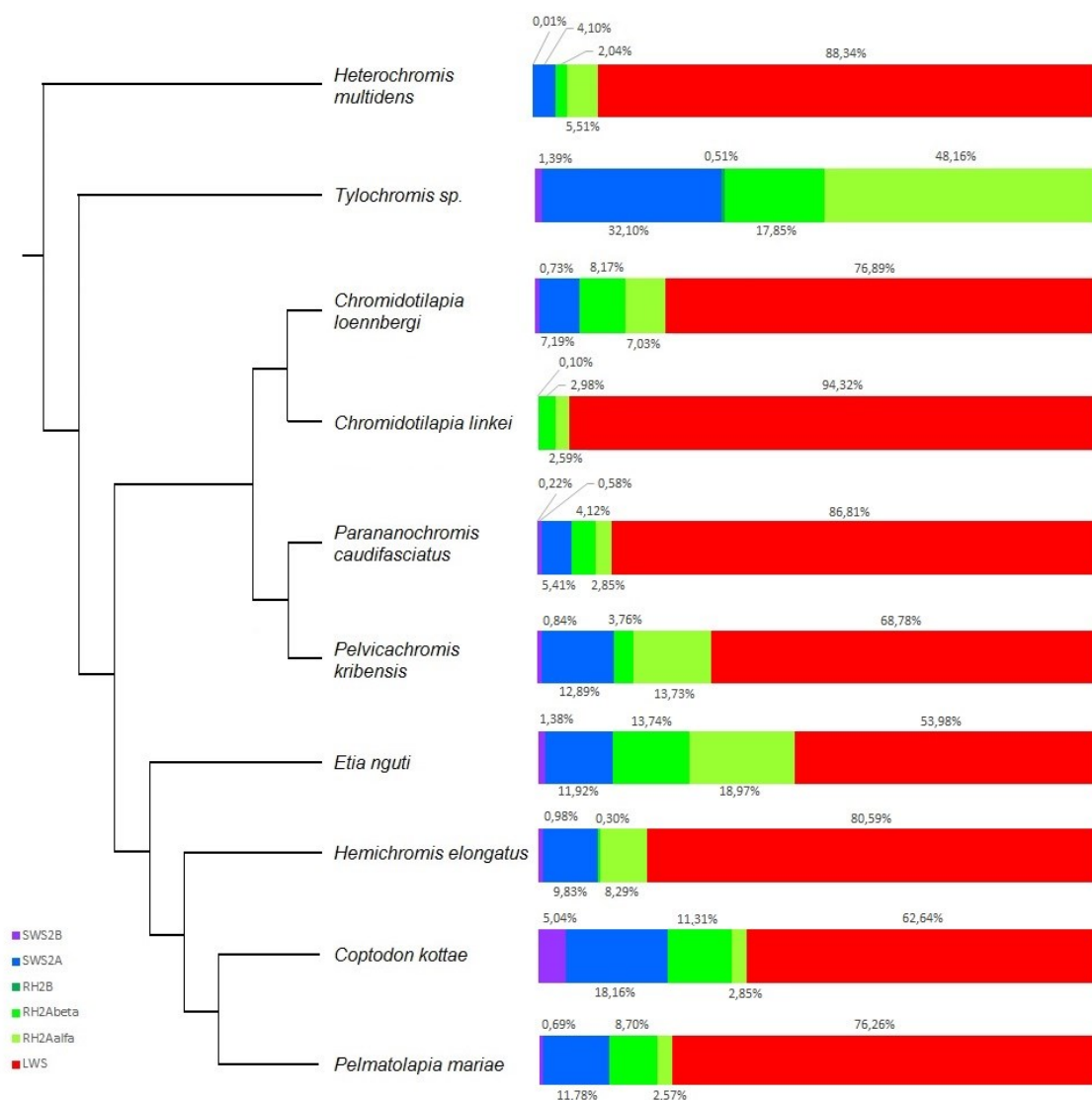
	124	130	150	154	155	158	160	162	164	166	178	181	193	195	196	205	213	214	217	218	220	227	231	259	261	263	269	270	282	290	292	304	
Oreochromis niloticus	A	I	A	T	G	V	S	V	S	F	F	H	S	S	E	I	I	I	G	I	I	W	R	V	V	Y	V	T	F	A	M	A	I
Danio rerio LWS_A	A	V	A	S	A	I	S	V	A	A	Y	H	S	S	E	V	I	I	A	I	I	Y	A	F	F	Y	F	T	F	A	M	A	V
Danio rerio LWS_B	G	V	G	S	A	I	S	V	A	V	Y	H	G	N	E	L	I	L	A	I	I	F	A	L	L	F	L	T	A	A	M	A	I
Cyprinus carpio LWS_01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	S	E	I	I	I	A	I	I	W	A	L	L	Y	V	-	-	-	-	-	-
Cyprinus carpio LWS_02	G	V	A	S	A	I	S	V	S	F	F	H	S	S	E	I	I	I	A	I	I	W	A	F	F	Y	F	T	F	A	M	A	I
Alburnus alburnus LWS	A	I	G	T	G	I	C	V	S	V	Y	H	S	S	E	I	I	I	A	I	I	Y	A	F	F	Y	F	T	F	A	L	A	V
Scardinius erythrophthalmus LWS	A	I	G	T	G	V	C	V	x	x	Y	H	S	S	E	V	I	I	A	I	I	Y	H	F	F	Y	F	T	F	A	L	A	V
Squalius cephalus LWS	A	I	G	T	G	I	C	V	A	F	Y	H	S	S	E	I	I	I	A	I	I	Y	A	I	Y	F	T	F	A	L	A	V	V
Rutilus rutilus LWS	A	I	G	T	G	I	C	V	A	F	Y	H	S	S	E	I	I	I	A	I	I	Y	A	I	Y	F	T	F	A	L	A	V	V
Abramis brama LWS	G	V	G	A	G	I	C	V	A	F	Y	H	S	S	E	I	I	I	A	I	I	Y	A	I	Y	F	T	F	A	L	A	V	V
Blicca bjoerkna LWS embryo	G	V	G	T	G	I	C	V	S	F	Y	H	S	S	E	I	F	I	A	V	V	Y	A	F	F	Y	F	T	F	A	L	A	V
Vimba vimba LWS	G	V	G	T	G	V	C	V	A	F	Y	H	S	S	E	I	L	I	A	V	V	Y	H	F	F	Y	F	T	V	S	M	A	I
Leuciscus leuciscus LWS	A	I	G	T	G	V	C	V	A	V	Y	H	S	S	E	I	I	I	A	I	I	Y	A	I	Y	F	T	F	A	M	A	V	V
Leuciscus idus	A	I	G	T	G	V	C	V	A	V	Y	H	S	S	E	I	I	I	A	I	I	Y	H	F	F	Y	F	T	F	A	L	A	V
Aspius aspius LWS	A	I	G	T	G	V	C	V	A	F	Y	H	S	S	E	I	I	I	A	I	I	Y	H	F	F	Y	F	T	F	A	L	A	V
Barbus barbus LWS1	G	V	A	S	G	I	S	A	S	F	F	H	S	S	E	I	I	I	A	V	I	W	R	L	Y	V	T	F	A	M	A	I	V
Barbus barbus LWS2	G	V	A	S	G	I	S	V	S	F	F	H	S	S	D	I	I	I	A	V	I	W	R	L	Y	V	T	F	A	M	A	V	V

4.4 Expresní profily opsinových genů

4.4.1 Exprese opsinů u cichlid

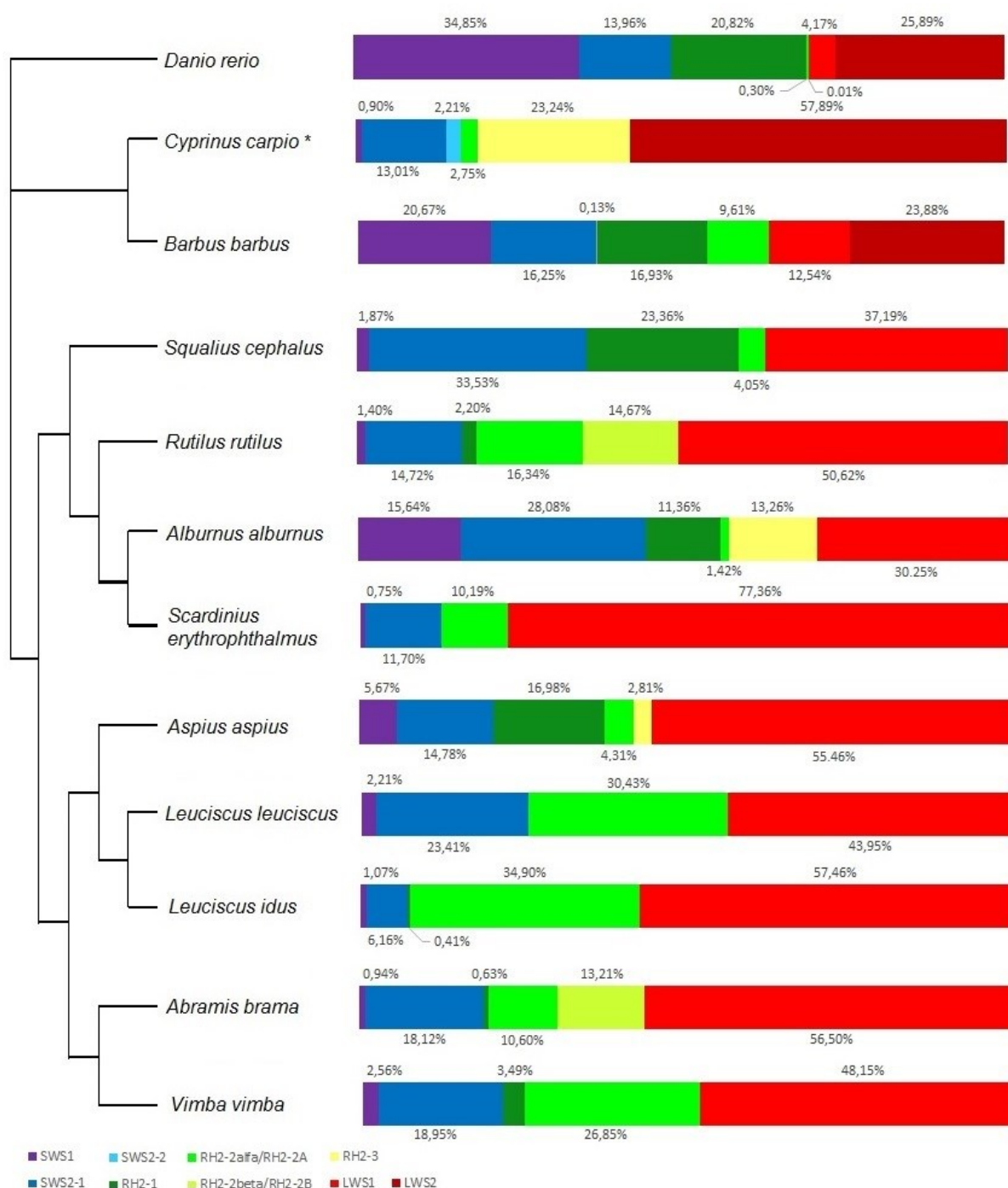
Získala jsem transkripty deseti jedinců z deseti druhů. Tyto cichlidy exprimují v různém poměru většinou pět ze svých sedmi čípkových opsinů. Výjimku tvoří *Chromidotilapia linkei*, která exprimuje pouze čtyři čípkové opsiny (SWS2B, SWS2A, RH2Aalfa a LWS) a *Parananochromis caudifasciatus*, jenž využívá šest čípkových opsinů (SWS1, SWS2B, SWS2A, RH2Abeta, RH2Aalfa a LWS). Všechny druhy kromě jednoho druhu rodu *Tylochromis* ve velké míře exprimují LWS, *Tylochromis* jako jediný LWS vůbec neexprimuje. Na druhou stranu, opsin citlivý na ultrafialové světlo a jeden z opsinů registrujících zelenou část barevného spektra ve většině případů využívány vůbec nejsou.

Obrázek 10: Expresní profily cichlid; jedná se o proporci jednotlivých čípkových opsinů ze 100%. Fylogenetický strom použit z Dunz a Schlieven, 2013; druhy rodů *Chromidotilapia*, *Parananochromis*, *Pelvicachromis* a *Hemichromis* zařazeny podle cytochrom oxidázy I.



4.4.2 Expresí opsinů u kaprovitých ryb

Obrázek 11: Expresní profily dospělých kaprovitých ryb; jedná se o proporci jednotlivých čípkových opsinů ze 100%. (*) data pro kapra obecného *Cyprinus carpio* byla použita pro porovnání, převzata z Musilová et al., v přípravě.



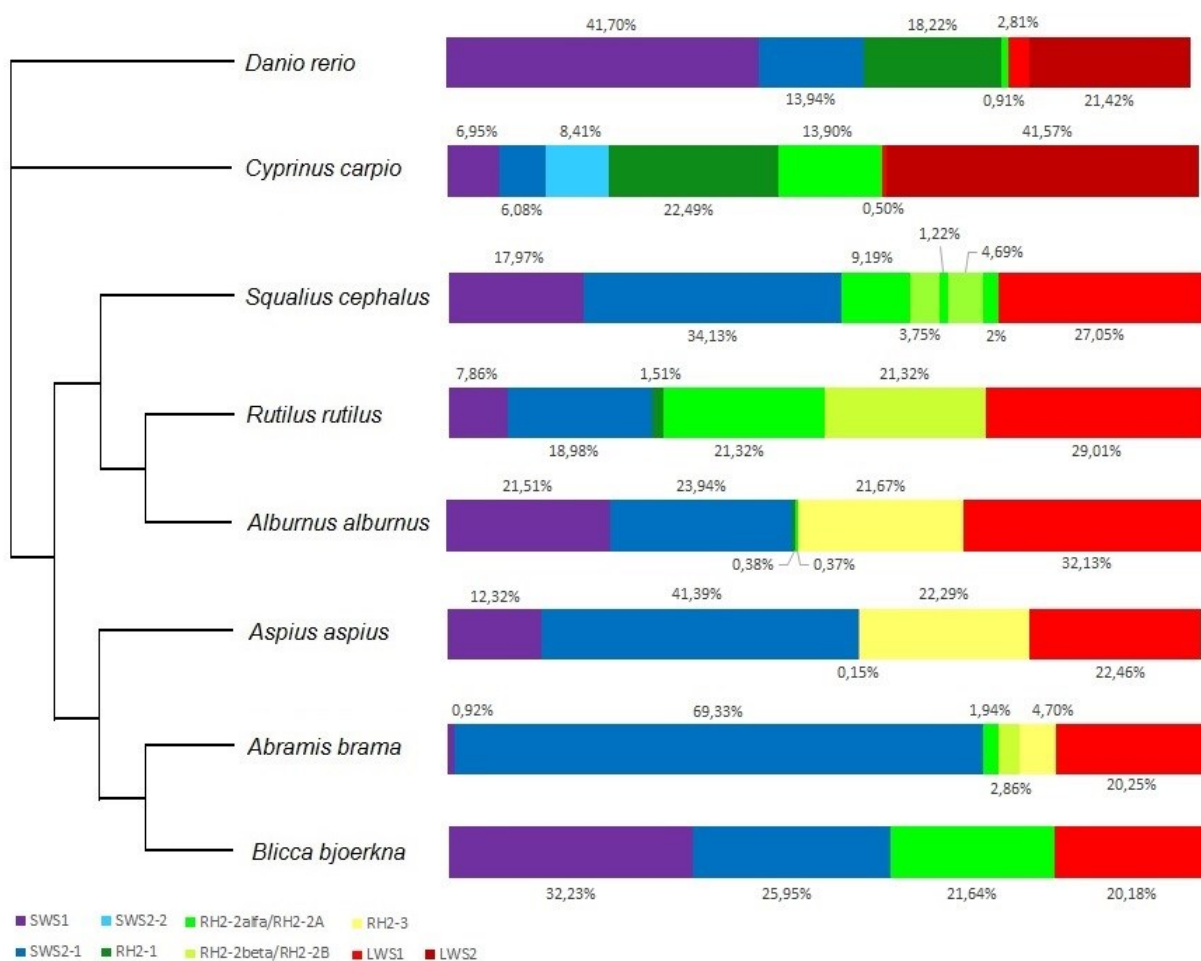
Celkem jsem získala transkripty jedenácti jedinců z jedenácti druhů, data z analýzy kapra obecného (*Cyprinus carpio*) pochází ode dvou jedinců a byla přidána do srovnání z Musilová et al., v přípravě.

4.5 Vývojová plasticita zraku u kaprovitých ryb

4.5.1 Expresní profily larválních stadií

Expresní profily larválních stadií kaprovitých ryb jsem zkoumala proto, abych je mohla porovnat s profily dospělců. Celkem se mi podařilo získat transkripty osmi jedinců z osmi druhů.

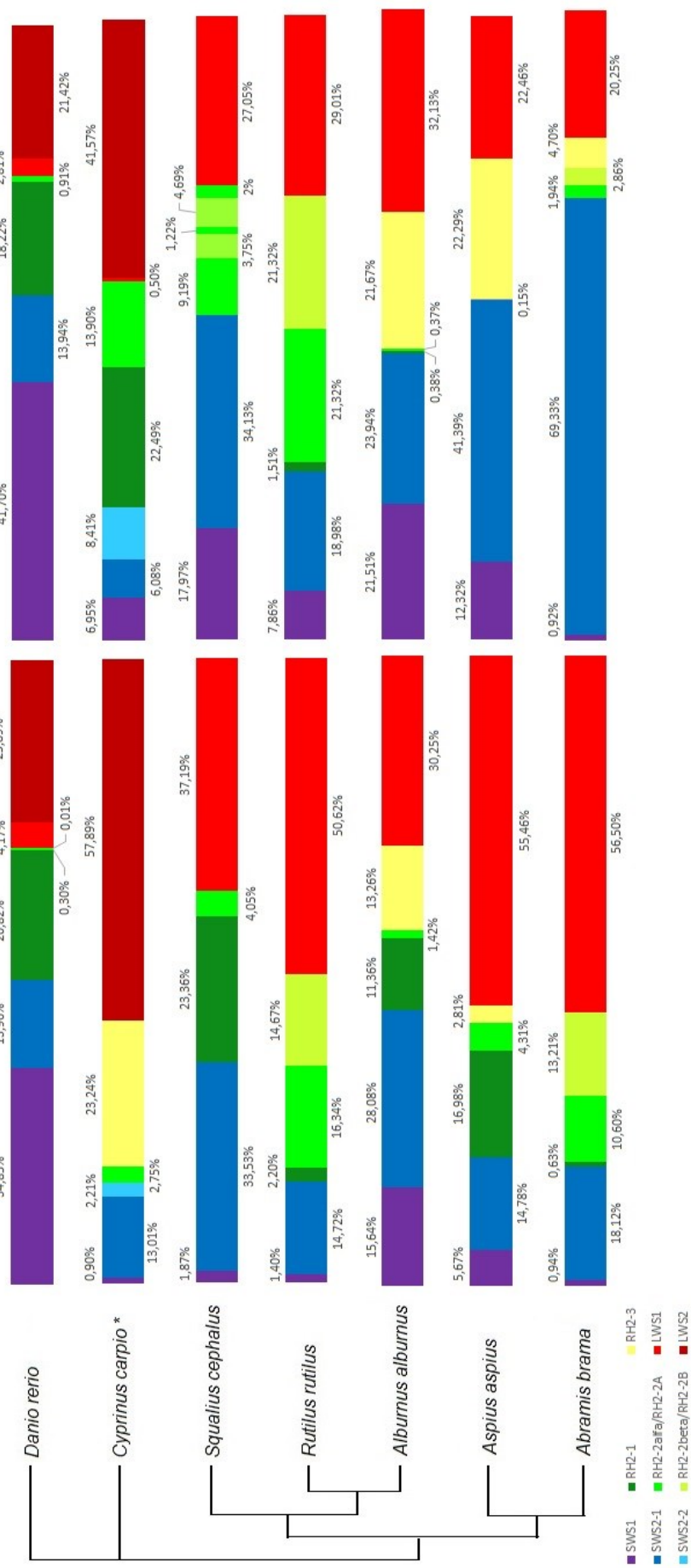
Obrázek 12: Expresní profily larválních stadií 8 druhů kaprovitých ryb, transkriptom dánía pruhovaného *Danio rerio* byl získán z databáze NCBI. Jedná se o proporce jednotlivých čípkových opsínů ze 100%.



4.5.2 Porovnání larválních stadií s dospělci

Porovnala jsem celkem čtrnáct transkriptomů ze sedmi druhů kaprovitých ryb. Transkriptom dospělého kapra obecného (*Cyprinus carpio*) byl převzat z Musilová et al., v přípravě. Transkripty larválního stadia a dospělé dánía pruhovaného (*Danio rerio*) jsem získala z databáze NCBI.

Obrázek 13: Porovnání expresních profilů dospělců (vlevo) a jejich larválních stadií (vpravo) u kaprovitých ryb. Jedná se o proporci jednotlivých čípkových opsínů ze 100%.



Ouklej obecná (*Alburnus alburnus*) má v průběhu ontogeneze zrak dominovaný červeným světlem. Expres LWS se v průběhu jejího vývoje jen mírně snižuje, zatímco exprese SWS1 a RH2-3 klesá mnohem více. Zato naopak narůstá exprese zeleného RH2-1 a mírně se zvyšuje i využití modrého SWS2.

Jelec tloušť (*Squalius cephalus*) v průběhu svého vývoje snižuje expresi SWS1 a zvyšuje využití červeného LWS a kopií RH2 opsinů, zatímco exprese SWS2 zůstává na stejné hladině jak u larválního stadia, tak u dospělého.

Plotice obecná (*Rutilus rutilus*) s dospíváním zvyšuje expresi LWS a celkově snižuje expresi ostatních opsinů, což dělá i bolen dravý (*Aspius aspius*).

Oproti tomu cejn velký (*Abramis brama*) má v larválním stadiu zrak dominovaný modrým světlem. Cejn celkově expresi svých opsinů zvyšuje, pouze exprese modrého SWS2 klesá z téměř 70 % v larválním stadiu na necelých 20 % u dospělého.

Dáňo pruhované (*Danio rerio*) zvyšuje expresi opsinů citlivých na delší vlnové délky, zatímco expresi SWS1 snižuje a hladinu exprese SWS2 udržuje na stejné úrovni. Co se týče jejích RH2 opsinů, ze čtyř kopií nejprve v larválním stadiu využívá dvě a v pozdějších stadiích nastupuje také exprese třetího RH2 opsinu.

5 Diskuze

5.1 Fylogeneze genů pro opsiny

Cichlidy i kaprovité ryby mají ve svém genomu kompletní sadu opsinových genů využívaných pro zrak, tedy mají všechny čtyři typy čípkových opsinů (SWS1, SWS2, RH2 a LWS) i tyčinkový opsin (rodopsin).

U cichlid došlo k duplikaci SWS2 opsinů i RH2 opsinů, což je známo již od Bowmaker a Hunt, 2006. Původ duplikace genu pro SWS2 opsin je v ancestrální duplikaci u předka skupiny Neoteleostei (Cortesi et al., 2015). Do této skupiny patří cichlidy, ale kaprovité ryby nikoli. Původ duplikací RH2 opsinů je více nejasný, je však zřejmé, že RH2A a RH2B mají také původ v ancestrální duplikaci (pravděpodobně též u předka Neoteleostei; Cortesi et al., 2016), zatímco původ kopií RH2Aalfa a RH2Abeta je obtížné určit. Buď se jedná o výsledek duplikace specifické pro cichlidy, nebo jde o další starší duplikaci, avšak s následnou genovou konverzí u cichlid, kdy došlo k přepsání části genu druhou kopií (Carleton et al., 2016). Z našich dat je patrné jasné rozdělení RH2A a RH2B, avšak RH2Aalfa a RH2Abeta, jejichž divergence by měla být mladá (Bowmaker a Hunt, 2006; Bowmaker, 2008), jednoznačně oddělené nejsou, jedním z důvodů může být právě zmíněná genová konverze.

U kaprovitých ryb byl zduplikován tyčinkový opsin (RH1). Ačkoli se v minulosti tvrdilo, že kostnaté ryby mají pouze jednu kopii rodopsinu, v posledních letech se ukazuje, že k duplikaci rodopsinu došlo u několika skupin kostnatých ryb a že kaprovité ryby jsou jednou z nich (Morrow et al., 2016). Kapr obecný (*Cyprinus carpio*) a parma obecná (*Barbus barbus*) pak ve své evoluci prošly celogenomovou duplikací (Zhang et al., 2013) a původní dva geny pro RH1 se navíc zduplikovaly na čtyři kopie u parmy, respektive tři (a jeden pseudogen) u kapra, což je zatím největší počet rodopsinových genů u obratlovců (mimo hlubokomořské ryby; Musilová et al., v přípravě).

Také čípkový opsin RH2 několikrát prošel u kaprovitých ryb duplikací. Další duplikace opsinových genů se objevují u kapra obecného (*Cyprinus carpio*) a parmy obecné (*Barbus barbus*), konkrétně například LWS. Oba druhy jsou polyploidní (David et al., 2003; Le Comber a Smith; 2004).

5.2 Záměny aminokyselin na klíčových pozicích a jejich potenciální vliv na funkci zraku

Yokoyama (2008) identifikoval klíčové pozice a aminokyseliny v nich, které jsou zodpovědné za posun citlivosti opsinového proteinu. Zpětné záměny aminokyselin nutně

neznamenají posun citlivosti opsinu o stejný počet nanometrů v obou směrech, tento efekt není dosud zcela objasněn (Yokoyama, 2008). Například *Heterochromis multidens* má v RH1 opsinu na pozici 83 asparagin, zatímco ostatní cichlidy mají kyselinu asparagovou. Yokoyamou (2008) testovaný efekt ukazuje, že mutace ve směru N83D vede k posunu o 6 nm ke kratším vlnovým délkám, zatímco opačný směr D83N vede ke zvýšení citlivosti o 2 nm. Předpokládáme tedy, že maximální citlivost rodopsinu *Heterochromise* je na rozdíl od ostatních druhů posunuta k delším vlnovým délkám, avšak je obtížné přesně vyčíslit, o kolik nanometrů se tato citlivost liší.

Pro rodopsiny bylo pokusy s mutagenezí (*in vitro* záměny s následným měřením funkce) zjištěno zatím 10 pozic, jež ovlivňují citlivost proteinu (Yokoyama, 2008), ale jen dvě z nich se vyskytují v námi studovaných druzích. Pozice 83 u cichlid byla zmíněna již výše a odlišná aminokyselina je pouze u druhu *Heterochromis multidens*, který jako jediný z námi cílených druhů říčních cichlid patří do podčeledi Heterochromidinae. V případě dvou kopií rodopsinu u kaprovitých ryb mají všechny na pozici 261 v jedné kopii fenylalanin. Jeho záměna za tyrosin ve druhé kopii posunula její citlivost o 10 nm směrem k delším vlnovým délkám, jak pozorujeme u 10 druhů z podčeledi Leuciscinae, avšak překvapivě tuto záměnu nemá *Danio rerio*, *Cyprinus carpio* ani *Barbus barbus* v žádné ze svých kopií RH1.

Změny citlivosti SWS2 opsinů jsou známým důsledkem výměny aminokyselin na třech pozicích (261, 269 a 292; Yokoyama, 2008). V rámci kaprovitých ryb je variabilní pozice 261, kdy nejspíš došlo k záměně fenylalaninu za tyrosinu u jelece jesena (*Leuciscus idus*) a podoustve říční (*Vimba vimba*), pro tuto záměnu však není posun v citlivosti znám (ale záměna v opačném směru, Y261F, by posunula citlivost opsinu o 5 nm směrem ke kratším vlnovým délkám).

Pro SWS2 kopie opsinů u cichlid platí posun ke kratším vlnovým délkám vlivem fenylalaninu na pozici 261. SWS2A a SWS2B se u některých cichlid liší v aminokyselině na pozici 269: oproti alaninu u všech SWS2A opsinů a některých SWS2B opsinů mají *Chromidotilapia linkei*, *Chromidotilapia loennbergi* a *Parananochromis caudifasciatus* na této pozici treonin, který posouvá citlivost jejich SWS2B opsinu o 6 nm směrem k delším vlnovým délkám.

U RH2 opsinů byl testován posun citlivosti záměnou na jediném místě (Yokoyama, 2008). Některé RH2 opsiny kaprovitých ryb mají na pozici 122 kyselinu glutamovou (*Barbus barbus*, *Leuciscus idus*). Na rozdíl od parmy obecné, která má na této pozici kyselinu glutamovou u obou kopií RH2 opsinu, jelec jesen (*Leuciscus idus*) má u jedné kopie glutamin a u druhé kyselinu glutamovou, která citlivost této kopie posouvá o 10 nm k delším vlnovým délkám oproti druhé kopii.

Citlivost LWS opsinu mění záměny aminokyselin na 4 místech (Yokoyama, 2008). Záměna serinu za alanin na pozici 164 posouvá jeho citlivost o 7 nm směrem ke kratším vlnovým délkám. Tuto záměnu mají z cichlid *Parananochromis caudifasciatus* a *Pelmatolapia mariae*. Kaprovitými rybami, které mají místo serinu alanin na pozici 164, jsou dánío pruhované (*Danio rerio*) (pro obě kopie LWS opsinu), jelec tloušť (*Squalius cephalus*), plotice obecná (*Rutilus rutilus*), cejnek malý (*Blicca bjoerkna*), jelec proudník (*Leuciscus leuciscus*) a bolen dravý (*Aspius aspius*). U dánía se jeho dvě kopie LWS opsinu liší také na pozici 261, kdy fenylalanin místo tyrosinu posouvá citlivost jedné kopie o 10 nm směrem ke kratším vlnovým délkám.

Kromě již určených klíčových pozic záměn aminokyselin shrnutých v Yokoyama, 2008 by z námi zjištěných pozic se záměnami v aminokyselinových sekvencích jak u kaprovitých ryb, tak i u cichlid mohly hrát roli další, zejména ty aminokyseliny ve struktuře proteinu, jež jsou natočeny do kapsule s navázaným chromoforem (Palczewski et al., 2000) Například záměna isoleucinu za cystein na pozici 262 u LWS opsinu cichlid, která je přítomna i u tilápie nilské (*Oreochromis niloticus*) a tří námi zkoumaných druhů (*Hemichromis elongatus*, *Etia nguti* a *Pelmatolapia mariae*) zvyšuje absorbované vlnové délky nad 566 nm (Carleton et al., 2005). Tyto další aminokyseliny tak pravděpodobně určují také změny citlivosti, avšak jejich přesný efekt není znám. Studie mutagenézí (shrnutí v Yokoyama, 2008) je pak také nutné brát s určitou rezervou, jelikož záměna aminokyseliny je vždy testována u sekvence nějakého druhu, tedy zcela jistě zde mohou hrát roli i interakce mezi ostatními aminokyselinami, které doposud nejsou objasněny.

5.3 Exprese opsinů

Cichlidy jsou modelovou skupinou pro výzkum zraku a konkrétně k výzkumu molekulární podstaty fotorecepce (např. Carleton, 2009; Spady et al., 2005). Také u nich máme, že mají jednoduché a dvojité čípky a které opsiny jsou na nich exprimovány (např. Dalton et al., 2014), avšak takovou informaci u kaprovitých ryb stále nemáme.

Cichlidy obecně exprimují tři geny pro opsiny, někdy spolu se čtvrtým opsinem (například Parry et al., 2005). To se však jedná hlavně o cichlidy z velkých jezer na východě Afriky. V případě námi zpracovaných dat říční cichlidy exprimují průměrně pět genů pro opsiny ze sedmi, přičemž jejich zrak je dominován světlem v červené části viditelného spektra (výjimkou je zatím blíže neurčený druh rodu *Tylochromis*, který má zrak dominovaný světlem v zelené části spektra).

Zrak říčních cichlid je podle kombinace SWS2A, RH2A a LWS opsinu orientován na dlouhé vlnové délky, tedy kombinaci červené složky světelného spektra (Hofmann et al., 2009). Tomu odpovídá expresní profil druhů *Coptodon kottae* a *Pelvicachromis kribensis*, které exprimují tyto tři opsiny v určitém poměru a k nim exprimují další dva v mnohem menší míře, kolem 3 %. *Hemichromis elongatus*, *Parananochromis caudifasciatus*, *Chromidotilapia loennbergi*, *Chromidotilapia linkei*, *Heterochromis multidens*, *Pelmatolapia mariae* a *Etia nguti* mají také vysokou expresi LWS, i nad 80 %, a RH2A spolu s SWS2A exprimují v nižší míře, maximálně kolem 8–10 %, což by také odpovídalo navrženému expresnímu profilu ryb zaměřených na světlo dlouhých vlnových délek. Takovýto expresní profil odpovídá například tilápii nilské (*Oreochromis niloticus*) (Spady et al., 2006). Profil s dominancí LWS opsinu lze nalézt i u některých linií cichlid z jezer Tanganyika a Malawi (O'Quin et al., 2010; Hofmann et al., 2009).

Na základě námi pozorovaného vzoru můžeme tvrdit, že expresní profil dominovaný expresí LWS genu bude u cichlid ancestrálním stavem (má ho totiž i bazální linie Heterochrominae) a je zároveň zastoupen u největšího počtu evolučních linií afrických cichlid, zatímco profily pozorované u jezerních cichlid z Malawi (O'Quin et al., 2010; Hofmann et al., 2009) s citlivostí v kratších vlnových délkách jsou tak nejspíše specifickým těchto linií.

Interpretace ohledně funkce zrakového systému na základě expresních dat má své limity, poněvadž nám dává pouze informaci o souhrnném množství jednotlivých genů přítomných v celé sítnici. Pro další podrobnější interpretace o funkci zrakového systému by se musely použít detailnější zobrazovací metody (například in-situ hybridizace), které by nám dovolily zaměřit se na jednotlivé buňky a expresi přímo v nich. Další metodou výzkumu zraku je mikrospektrofotometrie (MSP; Bowmaker, 1984), která byla použita například při výzkumu opsinů u karase zlatého (*Carassius auratus*) (Stell a Hárosi, 1976) či pstruha obecného (*Salmo trutta*) (Bowmaker a Kunz, 1987). MSP je klasická fyziologická metoda, jíž získáme skutečně funkční obraz – naměřené citlivosti jsou ty, které skutečně v sítnici v daný čas jsou. Kombinací dat z MSP z minulých studií a moderních genomických a transkriptomických přístupů tak můžeme složit co nejkompletnější obraz funkce zraku u zkoumaných druhů, což je můj dlouhodobý cíl.

5.3 Vývojová plasticita zraku u kaprovitých ryb

Výsledky mé studie ukazují, že expresní profily larválních stadií a dospělců se výrazně odlišují ve vzájemném poměru zastoupených opsinových genů. Toto je v souladu s předchozími studiemi zaměřenými na jiné skupiny ryb, například cichlidy (Spady et al., 2006;

O'Quin et al., 2011), lososy (Temple et al., 2008), sapínovce (Cortesi et al., 2016) nebo mořany (Shand et al., 2008).

U kaprovitých ryb v průběhu ontogeneze obecně klesá exprese SWS1 citlivého na ultrafialovou složku světelného spektra. Překvapivě byl obdobný trend pozorován i u cichlid, kde byli zkoumáni říční zástupci (tilápie nilská, *Oreochromis niloticus*; Spady et al., 2006) i zástupci druhů z jezer Tanganyika a Malawi (O'Quin et al., 2011). To ukazuje, že by se mohlo jednat o obecný vzor ontogeneze zraku u ryb, tedy že UV-citlivý SWS1 opsin je přítomen převážně v ranějších ontogenetických stádiích.

Zároveň u kaprovitých ryb různě stoupá exprese LWS, což se také shoduje s daty popsány u tilápie (Spady et al., 2006) a u mořanů (Shand et al., 2008). Nejvyšší nárůst exprese červeného opsinu je u bolena dravého (*Aspius aspius*), kde u dospělého vzrůstá o téměř 30%, a u cejna velkého (*Abramis brama*). U plotice obecné (*Rutilus rutilus*) je v dospělosti exprimováno o 20% LWS genu více než u larválního stadia.

Hladina exprese modrého SWS2 opsinu zůstává u některých druhů téměř neměnná (viz například dánío pruhované, *Danio rerio*, a jelec tloušť, *Squalius cephalus*), nebo může klesat, a to až o 50%, jako je tomu v případě cejna velkého (*Abramis brama*), či o něco méně u bolena dravého (*Aspius aspius*). U cichlid se exprese modrých opsinů zvyšuje, nebo nastupuje v pozdějších vývojových stádiích (O'Quin et al., 2011; Spady et al., 2006).

Co se týče různých kopií zelených RH2 genů, jejich poměry zastoupení v expresi se v průběhu ontogeneze mění. Některé kopie se exprimují již v larválním stadiu a později jejich exprese klesá (například u bolena dravého, *Aspius aspius*, a oukleje obecné, *Alburnus alburnus*), jiné kopie jsou exprimovány až v dospělosti (například u kapra obecného, *Cyprinus carpio*). U cichlid zůstává exprese některých RH2 genů během vývoje konstantní, nebo roste (Spady et al., 2006).

Kaprovité ryby v larválních stádiích obecně exprimují více opsinů citlivých na krátké (SWS1 a SWS2) a střední (RH2) vlnové délky.

Moje práce má i ten limit, že se zaměřuje pouze na jedno larvální a jedno dospělé stadium porovnaných druhů kaprovitých ryb. Známe tak u nich pouze počáteční a konečný stav a naše data nedovolují sledovat průběh změn. Zároveň stáří larválních stádií nebylo determinováno podle vývojových tabulek, tudíž stav, zde interpretovaný jako počáteční, mohl být v dřívějších stádiích ontogeneze jiný.

Přestože uvádím druhové složení v rámci našeho vzorkování, tato práce nebyla primárně zaměřená na studium druhové diverzity na dané lokalitě, šlo pouze o získání materiálu. Fakt, že se s postupující sezónou odlovu zvyšoval i počet zastoupených druhů ve

vzorku, závisí hlavně na způsobu odlovu – víc času stráveného na lokalitě zajistilo větší počet jedinců, potažmo druhů.

Původním záměrem bylo provést studii za využití metody qPCR, ale při analýze transkriptomů se ukázalo, že kaprovité ryby mají velké množství opsinových genů, a zejména zelené opsiny (RH2) by bylo velmi obtížné odlišit specifickými primery. Zároveň by nebylo možné navrhnout jednu sadu primerů pro celou podčeleď Leuciscinae. Z tohoto důvodu jsme se rozhodli analyzovat data pouze za využití transkriptomů. Pro následnou publikaci využiji rozšířený data set 48 transkriptomů, jejichž přípravu (ve fázi RNA knihoven) jsem již započala, ale nebylo časově reálné stihnout a získat všechna data pro diplomovou práci.

6 Závěr

Cichlidy (čeleď Cichlidae) i kaprovité ryby (čeleď Cyprinidae) mají ve svém genomu kompletní sadu genů pro opsiny zahrnující všechny čtyři skupiny čípkových opsinů (SWS1, SWS2, RH2 a LWS) využívaných pro fotopické a jednu skupinu opsinů (rodopsiny, RH1) využívanou pro skotopické vidění. U kaprovitých ryb jsou tyčinkové opsiny (rodopsiny) a některé čípkové opsiny (zejména zelené RH2 opsiny) zduplikovány. Kapr obecný (*Cyprinus carpio*) a parma obecná (*Barbus barbus*) jsou evolučně polyploidní druhy a mají navíc i dvě kopie červeného opsinu LWS.

Získaná data o cichlidách podporují dosavadní výsledky studií zaměřovaných na tuto skupinu ryb a rozšiřují poznání o evoluci zrakového systému u cichlid. Jejich evolučně původním znakem je vidění dominované fotoreceptory citlivými v červené části spektra; exprese červeného opsinu u nich často přesahuje 70%. Také expresní profil kaprovitých ryb je dominován červeným fotoreceptorem, tato práce tedy ukazuje, že může jít o obecnější vlastnost zrakového systému sladkovodních ryb.

Zjistila jsem, že exprese opsinů se v průběhu ontogeneze u kaprovitých ryb mění, což je opět v souladu s poznatky na jiných skupinách ryb a půjde tedy o obecný jev u ryb. Kaprovité ryby v larválních stádiích exprimují více ultrafialových (SWS1) a modrých (SWS2) opsinů. Obecně se zrak několika druhů z podčeledi Leuciscinae a kapra obecného (*Cyprinus carpio*) z krátkých až středních vlnových délek v larválním stadiu orientuje na střední až dlouhé vlnové délky ve stadiu dospělého. Zjistila jsem, že gen pro opsin citlivý v ultrafialové části spektra (SWS1) je u kaprovitých důležitou součástí larválního expresního profilu, což odpovídá známé situaci u cichlid, a je možné, že tak půjde o obecný jev u paprskoploutvých ryb. Larvální stadia ryb mají totiž často odlišné životní strategie než dospělci a předpokládá se, že se jejich expresní profily budou v průběhu ontogeneze měnit tak, aby nejlépe sloužily svému účelu v daném stadiu.

Závěry této práce odhalují molekulární mechanismy zrakového systému českých druhů kaprovitých ryb a získané poznatky poslouží jak pro vznik vědecké publikace, tak jako výchozí bod v dalším studiu zrakových schopností kaprovitých ryb zaměřenému více na funkci zrakového systému.

Reference

- Baylor, D.A., Lamb, T.D., Yau, K.W.** (1979). Responses of retinal rods to single photons. *The Journal of physiology*, 288(1), 613-634.
- Beatty, D.D.** (1984). Visual pigments and the labile scotopic visual system of fish. *Vision research*, 24(11), 1563-1573.
- Beaudry, F.E.G., Iwanicki, T.W., Mariluz, B.R.Z., Darnet, S., Brinkmann, H., Schneider, P., Taylor, J.S.** (2017). The non-visual opsins: eighteen in the ancestor of vertebrates, astonishing increase in ray-finned fish, and loss in amniotes. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*, 328(7), 685-696.
- Berthelot, C., Brunet, F., Chalopin, D., Juanchich, A., Bernard, M., Noël, B., Bento, P., Da Silva, C., Labadie, K., Alberti, A., Aury, J.M.** (2014). The rainbow trout genome provides novel insights into evolution after whole-genome duplication in vertebrates. *Nature communications*, 5, 3657.
- Besharse, J.C., Iuvone, P.M., Pierce, M.E.** (1988). Regulation of rhythmic photoreceptor metabolism: a role for post-receptoral neurons. *Progress in Retinal Research*, 7, 21-61.
- Blast.ncbi.nlm.nih.gov. (2017). *Nucleotide BLAST: Search nucleotide databases using a nucleotide query*. [online] <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> [cit. 2017-08-15]
- Bowmaker, J.K.** (1977). The visual pigments, oil droplets and spectral sensitivity of the pigeon. *Vision research*, 17(10), 1129-1138.
- Bowmaker, J.K.** (1984). Microspectrophotometry of vertebrate photoreceptors: a brief review. *Vision research*, 24(11), 1641-1650.
- Bowmaker, J.K.** (2008). Evolution of vertebrate visual pigments. *Vision research*, 48(20), 2022-2041.
- Bowmaker, J.K., Kunz, Y.W.** (1987). Ultraviolet receptors, tetrachromatic colour vision and retinal mosaics in the brown trout (*Salmo trutta*): age-dependent changes. *Vision research*, 27(12), 2101-2108.
- Bowmaker, J.K., Hunt, D.M.** (2006). Evolution of vertebrate visual pigments. *Current Biology*, 16(13), R484-R489.
- Carleton, K.L.** (2009). Cichlid fish visual systems: mechanisms of spectral tuning. *Integrative zoology*, 4(1), 75-86.
- Carleton, K.L., Parry, J.W., Bowmaker, J.K., Hunt, D.M., Seehausen, O.** (2005). Colour vision and speciation in Lake Victoria cichlids of the genus Pundamilia. *Molecular Ecology*, 14(14), 4341-4353.
- Carleton, K.L., Spady, T.C., Streelman, J.T., Kidd, M.R., McFarland, W.N., Loew, E.R.** (2008). Visual sensitivities tuned by heterochronic shifts in opsin gene expression. *BMC Biology*, 6(1), 22.
- Carleton, K.L., Dalton, B.E., Escobar-Camacho, D., Nandamuri, S.P.** (2016). Proximate and ultimate causes of variable visual sensitivities: insights from cichlid fish radiations. *Genesis*, 54(6), 299-325.
- Chinen, A., Matsumoto, Y., Kawamura, S.** (2005). Reconstitution of ancestral green visual pigments of zebrafish and molecular mechanism of their spectral differentiation. *Molecular Biology and Evolution*, 22(4), 1001-1010.

- Collin, S.P., Knight, M.A., Davies, W.L., Potter, I.C., Hunt, D.M., Trezise, A.E.** (2003). Ancient colour vision: multiple opsin genes in the ancestral vertebrates. *Current Biology*, 13(22), R864-R865.
- Collin, S.P., Davies, W.L., Hart, N.S., Hunt, D.M.** (2009). The evolution of early vertebrate photoreceptors. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 364(1531), 2925-2940.
- Cortesi, F., Musilová, Z., Stieb, S.M., Hart, N.S., Siebeck, U.E., Malmstrøm, M., Tørresen, O.K., Jentoft, S., Cheney, K.L., Marshall, N.J., Carleton, K.L.** (2015). Ancestral duplications and highly dynamic opsin gene evolution in percomorph fishes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(5), 1493-1498.
- Cortesi, F., Musilová, Z., Stieb, S.M., Hart, N.S., Siebeck, U.E., Cheney, K.L., Salzburger, W., Marshall, N.J.** (2016). From crypsis to mimicry: changes in colour and the configuration of the visual system during ontogenetic habitat transitions in a coral reef fish. *Journal of Experimental Biology*, jeb-139501.
- Cowing, J.A., Poopalasundaram, S., Wilkie, S.E., Robinson, P.R., Bowmaker, J.K.** (2002). The molecular mechanism for the spectral shifts between vertebrate ultraviolet-and violet-sensitive cone visual pigments. *Biochemical Journal*, 367(1), 129-135.
- Dalton, B.E., Loew, E.R., Cronin, T.W., Carleton, K.L.** (2014). Spectral tuning by opsin coexpression in retinal regions that view different parts of the visual field. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 281(1797), 20141980.
- David, L., Blum, S., Feldman, M.W., Lavi, U., Hillel, J.** (2003). Recent duplication of the common carp (*Cyprinus carpio* L.) genome as revealed by analyses of microsatellite loci. *Molecular Biology and Evolution*, 20(9), 1425-1434.
- Dungan, S.Z., Kosyakov, A., Chang, B.S.** (2015). Spectral tuning of killer whale (*Orcinus orca*) rhodopsin: evidence for positive selection and functional adaptation in a cetacean visual pigment. *Molecular Biology and Evolution*, 33(2), 323-336.
- Dunz, A.R., Schliewen, U.K.** (2013). Molecular phylogeny and revised classification of the haplotilapiine cichlid fishes formerly referred to as “Tilapia”. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 68(1), 64-80.
- Ehlman, S.M., Sandkam, B.A., Breden, F., Sih, A.** (2015). Developmental plasticity in vision and behavior may help guppies overcome increased turbidity. *Journal of Comparative Physiology A*, 201(12), 1125-1135.
- Fishelson, L., Ayalon, G., Zverdling, A., Holzman, R.** (2004). Comparative morphology of the eye (with particular attention to the retina) in various species of cardinal fish (Apogonidae, Teleostei). *The Anatomical Record Part A: Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology: An Official Publication of the American Association of Anatomists*, 277(2), 249-261.
- Froese, R., Pauly, D., editors.** (2018). FishBase. www.fishbase.org, (06/2018) [cit. 2018-08-10]
- Hauser, F.E., Ilves, K.L., Schott, R.K., Castiglione, G.M., López-Fernández, H., Chang, B.S.** (2017). Accelerated evolution and functional divergence of the dim light visual pigment accompanies cichlid colonization of Central America. *Molecular Biology and Evolution*, 34(10), 2650-2664.
- Hofmann, C.M., O'Quin, K.E., Marshall, N.J., Cronin, T.W., Seehausen, O., Carleton, K.L.** (2009). The eyes have it: regulatory and structural changes both underlie cichlid visual pigment diversity. *PLoS biology*, 7(12), e1000266.

- Hofmann, C.M., O'Quin, K.E., Smith, A.R., Carleton, K.L.** (2010). Plasticity of opsin gene expression in cichlids from Lake Malawi. *Molecular Ecology*, 19(10), 2064-2074.
- Huelsenbeck, J.P., Ronquist, F.** (2001). MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics*, 17(8), 754-755.
- Hunt, D.M., Dulai, K.S., Partridge, J.C., Cottrill, P., Bowmaker, J.K.** (2001). The molecular basis for spectral tuning of rod visual pigments in deep-sea fish. *Journal of Experimental Biology*, 204(19), 3333-3344.
- Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., Buxton, S., Cooper, A., Markowitz, S., Duran, C., Thierer, T., Ashton, B., Mentjies, P., Drummond, A.** (2012). Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28(12), 1647-1649.
- Lamb, T.D., Collin, S.P., Pugh Jr, E.N.** (2007). Evolution of the vertebrate eye: opsins, photoreceptors, retina and eye cup. *Nature Reviews Neuroscience*, 8(12), 960.
- Lagman, D., Daza, D.O., Widmark, J., Abalo, X.M., Sundström, G., Larhammar, D.** (2013). The vertebrate ancestral repertoire of visual opsins, transducin alpha subunits and oxytocin/vasopressin receptors was established by duplication of their shared genomic region in the two rounds of early vertebrate genome duplications. *BMC Evolutionary Biology*, 13(1), 238.
- Le Comber, S.C., Smith, C.** (2004). Polyploidy in fishes: patterns and processes. *Biological Journal of the Linnean Society*, 82(4), 431-442.
- Levine, J.S., MacNichol, E.F., Kraft, T., Collins, B.A.** (1979). Intraretinal distribution of cone pigments in certain teleost fishes. *Science*, 204(4392), 523-526.
- Lin, J.J., Wang, F.Y., Li, W.H., Wang, T.Y.** (2017). The rises and falls of opsin genes in 59 ray-finned fish genomes and their implications for environmental adaptation. *Scientific Reports*, 7(1), 15568.
- Losey, G.S., Nelson, P.A., Zamzow, J.P.** (2000). Ontogeny of spectral transmission in the eye of the tropical damselfish, *Dascyllus albisella* (Pomacentridae), and possible effects on UV vision. *Environmental Biology of Fishes*, 59(1), 21-28.
- Luo, W., Williams, J., Smallwood, P.M., Touchman, J.W., Roman, L.M., Nathans, J.** (2004). Proximal and distal sequences control UV cone pigment gene expression in transgenic zebrafish. *Journal of Biological Chemistry*, 279(18), 19286-19293.
- Lythgoe, J.N.** (1968). Visual pigments and visual range underwater. *Vision research*, 8(8), 997-1012.
- Meyer, A., Van de Peer, Y.** (2005). From 2R to 3R: evidence for a fish-specific genome duplication (FSGD). *Bioessays*, 27(9), 937-945.
- Morrow, J.M., Lazic, S., Fox, M.D., Kuo, C., Schott, R.K., Gutierrez, E.D.A., Santini, F., Tropepe, V., Chang, B.S.** (2016). A second visual rhodopsin gene, rh1-2, is expressed in zebrafish photoreceptors and found in other ray-finned fishes. *Journal of Experimental Biology*, jeb-145953.
- Muntz, W.R.A.** (1973). Yellow filters and the absorption of light by the visual pigments of some Amazonian fishes. *Vision research*, 13(12), 2235-2254.
- Musilová, Z., Cortesi, F., Matschiner, M., Davies, W., Stieb, S.M., de Busserolles, F., Malmstrøm, M., Tørresen, O.K., Hanel, R., Carleton, K., Jentoft, S., Marshall, J.N., Salzburger, W.** (in prep.). Multiple rhodopsins in deep sea fishes revive the question of color vision.

- Musser, J.M., Arendt, D.** (2017). Loss and gain of cone types in vertebrate ciliary photoreceptor evolution. *Developmental Biology*.
- Nandamuri, S.P., Yourick, M.R., Carleton, K.L.** (2017). Adult plasticity in African Cichlids: rapid changes in opsin expression in response to environmental light differences. *Molecular Ecology*, 26(21), 6036-6052.
- O'Quin, K.E., Hofmann, C.M., Hofmann, H.A., Carleton, K.L.** (2010). Parallel evolution of opsin gene expression in African cichlid fishes. *Molecular Biology and Evolution*, 27(12), 2839-2854.
- O'Quin, K.E., Smith, A.R., Sharma, A., Carleton, K.L.** (2011). New evidence for the role of heterochrony in the repeated evolution of cichlid opsin expression. *Evolution & development*, 13(2), 193-203.
- Ogawa, Y., Shiraki, T., Kojima, D., Fukada, Y.** (2015). Homeobox transcription factor Six7 governs expression of green opsin genes in zebrafish. *Proc. R. Soc. B*, 282(1812), 20150659.
- Owens, G.L., Rennison, D.J., Allison, W.T., Taylor, J.S.** (2012). In the four-eyed fish (*Anableps anableps*), the regions of the retina exposed to aquatic and aerial light do not express the same set of opsin genes. *Biology letters*, 8(1), 86-89.
- Palacios, A.G., Varela, F.J., Srivastava, R., Goldsmith, T.H.** (1998). Spectral sensitivity of cones in the goldfish, *Carassius auratus*. *Vision research*, 38(14), 2135-2146.
- Palczewski, K., Kumasaka, T., Hori, T., Behnke, C.A., Motoshima, H., Fox, B.A., Le Trong, I., Teller, D.C., Okada, T., Stenkamp, R.E., Yamamoto, M.** (2000). Crystal structure of rhodopsin: AG protein-coupled receptor. *Science*, 289(5480), 739-745.
- Parry, J.W., Bowmaker, J.K.** (2000). Visual pigment reconstitution in intact goldfish retina using synthetic retinaldehyde isomers. *Vision research*, 40(17), 2241-2247.
- Parry, J.W., Carleton, K.L., Spady, T., Carboo, A., Hunt, D.M., Bowmaker, J.K.** (2005). Mix and match color vision: tuning spectral sensitivity by differential opsin gene expression in Lake Malawi cichlids. *Current Biology*, 15(19), 1734-1739.
- Perea, S., Böhme, M., Zupančič, P., Freyhof, J., Šanda, R., Özuluğ, M., Abdoli, A., Doadrio, I.** (2010). Phylogenetic relationships and biogeographical patterns in Circum-Mediterranean subfamily Leuciscinae (Teleostei, Cyprinidae) inferred from both mitochondrial and nuclear data. *BMC Evolutionary Biology*, 10(1), 265.
- Rambaut, A.** (2016) FigTree v. 1.4.3. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>
- Randall, D.J., Farrell, A.P.** (1997). *Deep-sea fishes: Rand.* Academic Press.
- Robinson, J., Schmitt, E.A., Harosi, F.I., Reece, R.J., Dowling, J.E.** (1993). Zebrafish ultraviolet visual pigment: absorption spectrum, sequence, and localization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(13), 6009-6012.
- Saitoh, K., Sado, T., Mayden, R. L., Hanzawa, N., Nakamura, K., Nishida, M., Miya, M.** (2006). Mitogenomic evolution and interrelationships of the Cypriniformes (Actinopterygii: Ostariophysi): the first evidence toward resolution of higher-level relationships of the world's largest freshwater fish clade based on 59 whole mitogenome sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 63(6), 826-841.
- Shand, J., Davies, W.L., Thomas, N., Balmer, L., Cowing, J.A., Pointer, M., Carvalho, L.S., Trezise, A.E., Collin, S.P., Beazley, L.D., Hunt, D.M.** (2008). The influence of ontogeny and light environment on the expression of visual pigment opsins in the retina of the black bream, *Acanthopagrus butcheri*. *Journal of Experimental Biology*, 211(9), 1495-1503.

- Shichida, Y., Matsuyama, T.** (2009). Evolution of opsins and phototransduction. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 364(1531), 2881-2895.
- Schwarzer, J., Misof, B., Tautz, D., Schliewen, U.K.** (2009). The root of the East African cichlid radiations. *BMC Evolutionary Biology*, 9(1), 186.
- Siebeck, U.E.** (2004). Communication in coral reef fish: the role of ultraviolet colour patterns in damselfish territorial behaviour. *Animal Behaviour*, 68(2), 273-282.
- Somiya, H.** (1987). Dynamic mechanism of visual accommodation in teleosts: structure of the lens muscle and its nerve control. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 230(1258), 77-91.
- Spady, T.C., Seehausen, O., Loew, E.R., Jordan, R.C., Kocher, T.D., Carleton, K.L.** (2005). Adaptive molecular evolution in the opsin genes of rapidly speciating cichlid species. *Molecular Biology and Evolution*, 22(6), 1412-1422.
- Spady, T.C., Parry, J.W., Robinson, P.R., Hunt, D.M., Bowmaker, J.K., Carleton, K.L.** (2006). Evolution of the cichlid visual palette through ontogenetic subfunctionalization of the opsin gene arrays. *Molecular Biology and Evolution*, 23(8), 1538-1547.
- Stell, W.K., Hárosi, F.I.** (1976). Cone structure and visual pigment content in the retina of the goldfish. *Vision research*, 16(6), 647-654.
- Sugawara, T., Imai, H., Nikaido, M., Imamoto, Y., Okada, N.** (2009). Vertebrate rhodopsin adaptation to dim light via rapid meta-II intermediate formation. *Molecular Biology and Evolution*, 27(3), 506-519.
- Swaroop, A., Kim, D., Forrest, D.** (2010). Transcriptional regulation of photoreceptor development and homeostasis in the mammalian retina. *Nature Reviews Neuroscience*, 11(8), 563.
- Tada, T., Altun, A., Yokoyama, S.** (2009). Evolutionary replacement of UV vision by violet vision in fish. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, pnas-0903839106.
- Takechi, M., Kawamura, S.** (2005). Temporal and spatial changes in the expression pattern of multiple red and green subtype opsin genes during zebrafish development. *Journal of Experimental Biology*, 208(7), 1337-1345.
- Takechi, M., Seno, S., Kawamura, S.** (2008). Identification of cis-acting elements repressing blue opsin expression in zebrafish UV cones and pineal cells. *Journal of Biological Chemistry*, 283(46), 31625-31632.
- Temple, S. E., Veldhoen, K. M., Phelan, J. T., Veldhoen, N. J., Hawryshyn, C. W.** (2008). Ontogenetic changes in photoreceptor opsin gene expression in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*, Walbaum). *Journal of Experimental Biology*, 211(24), 3879-3888.
- Temple, S., Hart, N. S., Marshall, N. J., Collin, S. P.** (2010). A spitting image: specializations in archerfish eyes for vision at the interface between air and water. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 277(1694), 2607-2615.
- Terai, Y., Miyagi, R., Aibara, M., Mizoiri, S., Imai, H., Okitsu, T., Wada, A., Takahashi-Kariyazono, S., Sato, A., Tichy, H., Mrosso, H. D.** (2017). Visual adaptation in Lake Victoria cichlid fishes: depth-related variation of color and scotopic opsins in species from sand/mud bottoms. *BMC Evolutionary Biology*, 17(1), 200.
- Terakita, A.** (2005). The opsins. *Genome Biology*, 6(3), 213.

- Tohya, S., Mochizuki, A., Iwasa, Y.** (2003). Difference in the retinal cone mosaic pattern between zebrafish and medaka: cell-rearrangement model. *Journal of Theoretical Biology*, 221(2), 289-300.
- Tsujimura, T., Chinen, A., Kawamura, S.** (2007). Identification of a locus control region for quadruplicated green-sensitive opsin genes in zebrafish. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(31), 12813-12818.
- Tsujimura, T., Hosoya, T., Kawamura, S.** (2010). A single enhancer regulating the differential expression of duplicated red-sensitive opsin genes in zebrafish. *PLoS genetics*, 6(12), e1001245.
- Turner, G.F., Stauffer, J.R.** (1998). Three new deep water cichlid fishes of the genus *Diplotaxodon* from Lake Malawi, with a redescription of *Diplotaxodon ecclesi*. *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 8, 239-252.
- Van de Peer, Y., Maere, S., Meyer, A.** (2009). The evolutionary significance of ancient genome duplications. *Nature Reviews Genetics*, 10(10), 725.
- Wald, G.** (1968). The molecular basis of visual excitation. *Nature*, 219(5156), 800.
- Wang, F.Y., Fu, W.C., Wang, I.L., Yan, H.Y., Wang, T.Y.** (2014). The giant mottled eel, *Anguilla marmorata*, uses blue-shifted rod photoreceptors during upstream migration. *PloS one*, 9(8), e103953.
- Yokoyama, S.** (2000). Molecular evolution of vertebrate visual pigments. *Progress in Retinal and Eye Research*, 19(4), 385-419.
- Yokoyama, S.** (2008). Evolution of dim-light and color vision pigments. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.*, 9, 259-282.
- You, X., Bian, C., Zan, Q., Xu, X., Liu, X., Chen, J., Wang, J., Qiu, Y., Li, W., Zhang, X., Sun, Y.** (2014). Mudskipper genomes provide insights into the terrestrial adaptation of amphibious fishes. *Nature communications*, 5, 5594.
- Zhang, X., Zhang, Y., Zheng, X., Kuang, Y., Zhao, Z., Zhao, L., Li, C., Jiang, L., Cao, D., Lu, C., Xu, P.** (2013). A consensus linkage map provides insights on genome character and evolution in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Marine biotechnology*, 15(3), 275-312.